

SZAKDOLGOZAT

Battyányi Dorka Szakdolgozat

Battyányi Dorka

2023



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

**ROZMARING MIKROHULLÁMÚ EXTRAKCIÓJA ÉS
ÉRTÉKES KOMPONENSEINEK MEGHATÁROZÁSA**

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

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

Készítette: **Battyányi Dorka**

**Budapest
2023**

TARTALOMJEGYZÉK

1.	BEVEZETÉS	1
2.	A MUNKA CÉLJA	2
3.	IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	3
3.1	ROZMARING JELLEMZÉSE.....	3
3.1.1	MORFOLÓGIÁJA	4
3.1.2	ÉGHAJLAT ÉS TALAJIGÉNY, BETAKARÍTÁS	5
3.1.3	BELTARTALMI JELLEMZŐK.....	6
3.1.4	ROZMARING ÉLETTANI HATÁSA	6
3.1.5	ROZMARING BIOAKTÍV KOMPONENSEI.....	7
3.1.5.1	Fenolos vegyületek.....	8
3.1.5.2	A Flavonoidok.....	10
3.1.5.3	Diterpének és triterpének.....	11
3.2	Az ANTIOXIDÁNS VEGYÜLETEK SZEREPE.....	11
3.3	ANTIOXIDÁNS KAPACITÁS JELLEMZÉSÉRE HASZNÁLT MÉRŐMÓDSZEREK.....	12
3.3.1	Az összes polifenol-tartalom meghatározása Folin-Ciocalteu reagenssel.....	12
3.3.2	Az antioxidáns-tartalom meghatározása FRAP módszerrel.....	13
3.4	EXTRAKCIÓ	14
3.4.1	Extraktiók csoportosítása.....	14
3.4.2	Szilárd-folyadék extrakció	14
3.5	MIKROHULLÁMÚ EXTRAKCIÓ	15
3.6	KÍSÉRLETTERV KIDOLGOZÁSA	15
4.	ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....	17
4.1	ALKALMAZOTT ANYAGOK	17
4.2	FELHASZNÁLT VEGYSZEREK ÉS REAGENSEK	17
4.3	ELŐKÍSÉRLET FOLYAMATA ÉS EREDMÉNYEI.....	17
4.4	KÍSÉRLETTERV ISMERTETÉSE	19
4.5	EXTRAKTUM KÉSZÍTÉS	20
4.6	ÖSSZES POLIFENOL-TARTALOM MEGHATÁROZÁSA FOLIN-CIOCALTEU REAGENSSEL (TPC)	20
4.7	ANTIOXIDÁNS KAPACITÁS MÉRÉSE FRAP MÓDSZERREL	23
4.8	KIÉRTÉKELÉS	25
5.	A KÍSÉRLET EREDMÉNYEI ÉS KIÉRTÉKELÉSÜK	26
5.1	STATISZTIKAI KIÉRTÉKELÉS	26
5.2	POLIFENOL-TARTALOM ELEMZÉSE	27
5.3	ANTIOXIDÁNS KAPACITÁS ELEMZÉSE.....	36
5.4	FAKTOROK HATÁSAINAK ÖSSZESÍTÉSE A MÉRT ANALITIKAI VÁLTOZÓKRA	45
5.5	KORRELÁCIÓ ELEMZÉSE A VIZSGÁLT PARAMÉTEREK KÖZÖTT	46
5.6	NUMERIKUS OPTIMALIZÁLÁS	47
6.	KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK	48
7.	ÖSSZEFOGLALÁS	49
	IRODALMI HIVATKOZÁSOK.....	51
	TÁBLÁZATOK ÉS ÁBRÁK JEGYZÉKE	56
	TÁBLÁZATOK	56
	ÁBRÁK	56

1. BEVEZETÉS

Az utóbbi években a rozmaring használata széles körben elterjedt és közkedvelté vált, részben gyógyászati és antibakteriális tulajdonságainak köszönhetően, amelyek a középkorig nyúlnak vissza. A rozmaring iránti megnövekedett érdeklődés a közösségi médiának, a trendkövetésnek, és az élelmiszeripari cégek edukatív tartalmainak tulajdonítható. Emellett a magyar emberek életmódja is egyre inkább az egészséges táplálkozás és életmód felé tolódott el.

Világszerte használják a fűszernövényeket, gyógyító és ízesítő hatásuk miatt. A COVID-19 járvány kezdetén az európai gyógynövénypiac hatalmas növekedésen ment keresztül. Az ázsiai országokban pedig, az immunitás megnövelésének érdekében a nyers, nem feldolgozott gyógynövényekre és a helyben gyártott gyógyszerekre helyezték a hangsúlyt. A gyógynövényekből készült teákat, valamint a rozmaringot, kurkumát, köményt, koriandert, és fokhagymát tartalmazó étrend-kiegészítőket is széles körben értékesítették ([http1](#)).

Hazánkban a tudatos fogyasztók száma egyre jobban növekszik, mivel az emberek nagy része törekszik a minimális adalékanyagokat tartalmazó, természetes élelmiszereket és a további egészségügyi előnyöket nyújtó funkcionális élelmiszereket választani.

Az általam tanulmányozott fűszernövényként ismert gyógynövény a rozmaring, számos pozitív hatással van az emberi szervezetre. Többek között jól ismert a gyulladáscsökkentő, antibakteriális hatása, valamint az immunrendszert erősítő, és emésztést segítő ereje.

A médiának, és a természetgyógyászoknak köszönhetően manapság rengetegen használják hajnövesztő szérumként is az otthon elkészített verzióját, mialatt a rozmaring megtisztított leveleinek főzetét érthetjük (Uronnachi et al., 2022).

Számos kutatás megerősítette, hogy a rozmaring antibakteriális hatását az élelmiszeriparban is hatékonyan lehet használni, mivel mikrobaölő tulajdonsága miatt, a húsoknak egy rozmaringgal ellátott pácolás után jelentősen megnövekedett az eltarthatósági ideje (Yang et al., 2023).

A szakdolgozatom során, a mérés közép pontjában az állt, hogy mikrohullámú extrakciót alkalmazva megvizsgáljam a rozmaringra, tudományos nevén *Salvia rosmarinus*ra nézve, hogyan változnak az általam elkészített kivonatokban, a vizsgált növény beltartalmi jellemzői. Különböző koncentrációjú izopropanol-víz oldószert használva, változó teljesítményeken mérve, és különböző időtartamú műveleteken át figyeltem meg az összefüggéseket, és hogy ezek milyen módon befolyásolják egymást.

2. A MUNKA CÉLJA

A rozmarying leveleinek kimagasló antioxidáns tartalma és mikrobaölő hatása mára már jól ismert az egész világban. Számos magyar, és nemzetközi irodalom foglalkozik, a rozmarying leveleiből készült kivonatok, elemzésével, annak beltartalmi jellemzőivel. A jótékony hatásait a benne lévő bioaktív komponenseknek köszönhetjük, amelyek a flavonoidok, polifenolok, diterpének és triterpének, mint például a rozmarinsav, luteloin, karnoinsav, ursolsav, kávésav, és karnoszol (Sharma et al., 2020).

A munkám célja a rozmarying szárított leveleiből készített, izopropanolos extraktumok vizsgálata volt. A kísérletem során azt vizsgáltam meg, hogy milyen pozitív élettani hatásokkal bíró komponenseket tartalmaz ez a növény, és milyen élelmiszerekhez lehetne másodlagos alapanyagként felhasználni, hogy annak dúsítsuk a tápanyagtartalmát, és esetlegesen az élvezeti értékét, tehát funkcionális élelmiszert készítsünk belőlük.

Tapasztalataim szerint hazánkban a rozmarying felhasználása legtöbbször fűszerezések során történik, ugyanis egy nagyon jellegzetes, meghatározó ízt kölcsönöz az ételeknek. Sokan már felfedezték a rozmarying haj és fejbőr regeneráló, valamint gyógyító hatását, és sok szakirodalom említi a mikrobaölő tevékenységét, tartósításra való alkalmasságát is. Viszont arról, hogy valaki a nagy antioxidáns vagy polifenol-tartalma miatt fogyasztná, már kevesebbet hallani.

Sok hazai és külföldi kutatás is bebizonyította, hogy a rozmarying gazdag antioxidánsokban, és nagy mértékben tartalmaz fenolos vegyületeket is. A legtöbb ilyen szakirodalomban, a rozmarying extrakcióját etanollal, és annak desztillált vízzel történő hígításával végezték. Kutatásaim során kevés információt találtam az izopropanollal történő extrakcióról, így néhány oldószer választásos előkísérlet után, ezt választottam.

A kísérleteket megelőzően összeállítottam egy kísérlettervet, ami alapján megterveztem a kivonat készítés paramétereit. A mérés során a változó paraméterek az extrakciós idő (2-10 perc), az oldószer koncentrációja (10-90 V/V%), valamint a berendezés teljesítménye (100-800 W) voltak. Ennek a három paraméternek kerestem az optimális beállítását, annak érdekében, hogy minél magasabb antioxidáns kapacitást és polifenol-tartalmat tudjak elérni.

Az optimális paraméterek megállapítása segít abban, hogy mely beállításon tudjuk a legtöbb értékes komponenst kinyerni a rozmaryingból a vizsgált tartományban. A kivonatok alapját képezhetik egy jövőbeli funkcionális élelmiszer kifejlesztésének, vagy egy már meglévő élelmiszer dúsításának.

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1 Rozmaring jellemzése

A *Rosmarinus officinalis*, amely a Lamiaceae családba tartozik, egyike a legrégebbi mediterrán cserjéknek. Ismert az erős, fűszeres aromájáról, hosszúkás, sötétzöld leveleiről és fehér vagy lila virágairól. Több száz éve használják már a rozmaringot, mint fűszernövény és természetes gyógyszer (Kumar et al., 2016). A *Rosmarinus* név a latin kifejezésből ered, mely "a tenger harmatát" jelenti. Az ókori Görögország és Róma idején a rozmaring az emlékezés szimbóluma volt. Jótékony hatásait az agy-, máj-, szív- és szemproblémák kezelésében is felismerték olyan neves személyiségek, mint Dioszkoridész, Theofánusz és Conrad Gesner, valamint az ókori gyógyítók. A középkorban Franciaországban a rozmaringot gyakran égették templomi füstölőként és használták a kórházakban a levegő tisztítására (Nutrizio et al., 2023).

A rozmaring gazdag A és C-vitaminban, tiaminban, riboflavinban, B6-vitaminban és folsavban. Ezenkívül jelentős mennyiségű fontos ásványi anyagot tartalmaz, például kalciumot, magnéziumot, vasat, foszfort, káliumot és rezet. Azonban a rozmaring különlegessége továbbmegy ezeken az alapvető tápanyagokon (Kumar et al., 2016).

A növényben található karnozolsav és karnozol olyan vegyületek, amelyeknek erős kemopreventív tulajdonságai vannak. Ezek a vegyületek a tudomány szerint képesek lehetnek megelőzni vagy lassítani bizonyos típusú rákos megbetegedéseket, mint például a prosztatata-, bőr-, mell-, leukémia-, tüdő-, húgyhólyag- és vastagbélrák. Ezenkívül a rozmaring rendelkezik gyulladáscsökkentő tulajdonságokkal, amelyek hozzájárulhatnak a szervezet egészségének fenntartásához és a gyulladással járó betegségek kezeléséhez. Mindemellett antidepresszáns tulajdonságai is ismertek, ami azt sugallja, hogy fogyasztása segíthet a hangulati problémákkal küzdő embereknek (Kumar et al., 2016). Ennek következtében a rozmaring nem csak kulináris kincs, hanem az egészség és a jólét támogató eszköze is.

3.1.1 Morfológiája

A rozmaring növény (1. ábra) morfológiai jellemzői kiválóan tükrözik az adaptációját a mediterrán éghajlati viszonyokhoz. Ez a cserje általában 0,5-1,5 méteres magasságú, és rendkívül elágazó gyökérzetet fejleszt ki. A szára is erőteljesen elágazik, és az idősebb ágak fásodnak. A levelek zöldesszürkék és tűszerűek, hosszuk általában 1,5-4 cm, szélességük 2-3 mm között mozog. A rozmaring jellegzetes aromáját adó illóolajokat a mirigyszőrökben termelik és választják ki. Virágai a levelek hónaljában jelennek meg, és általában kékes vagy esetleg fehér árnyalatúak. A termés, amit makkocskának nevezünk, ovális, fénytelen és barna színű. A virágzás általában március és április hónapokban kezdődik, és időről időre egészen szeptember elejéig is eltarthat (Somogyi, 2008).

Tapasztalataim alapján ezen fizikai tulajdonságai a rozmaringnak lehetővé teszik, hogy sikeresen alkalmazkodjon a mediterrán éghajlat szárazságához és hőmérsékletváltozásaihoz. Saját kertészetünkben, nagy területen termelt rozmaring a nyári időszakban rendkívül szárazságtűrő és emellett az őszi csapadékos időhöz is kellőképpen tud alkalmazkodni.

1. ábra: Rozmaring felépítése

(Forrás: <http2>.)



3.1.2 Éghajlat és talajigény, betakarítás

A rozmaring betakarítása a növény lágy szár- és levélrészeinek gondos megmetszését jelenti. Ezt a műveletet a rozmaring telepítésének évében egyszer hajtják végre. Azután a következő évek során évente kétszer is ismétlődik ez a folyamat. Az első ilyen vágás általában a virágzás idején történik, amikor a rozmaring gazdag illóolajokban és aromás vegyületekben. A második vágás általában a nyár végére tevődik, mikor a növények már erősek és újra virágznak (Somogyi, 2008).

A betakarított növényi részeket szellős és árnyékos helyen szárítják, hogy eltávolítsák belőlük a nedvességet. Ezt követően a szárított darabokat morzsolják szét, ami a rozmaring szárait és leveleit is tartalmazza, melyeket a morzsolás után rostákkal választanak szét egymástól. A levél méretétől és állagától függően azokat időnként finom porrá őrlik, amely ideális az ízesítéshez és fűszerezéshez, valamint illóolaj kinyerésére is előszeretettel használják (Somogyi, 2008). Az általam használt friss, és szárított rozmaring az 2. ábrán látható.

2. ábra: A méréseim során használt rozmaring friss és szárított változata

(Forrás: saját készítésű fotó)



3.1.3 Beltartalmi jellemzők

A rozmaringra jellemző makro- és mikroelem tartalmat az 1. és 2. táblázatban mutatom be. Az irodalmi adatokat elemezve kijelenthető, hogy a rozmaring kalcium, és kálium tartalma a legnagyobb a megfigyelt makroelemek közül. Mikroelemek közül a vas és a mangántartalom jelentősen kiemelkedik, a többi megfigyelt mikroelem közül.

1.táblázat: Rozmaring makroelemei

(Forrás: Musa Özcan et al., 2019)

Makroelemek (mg/1000 g)				
Ca	Mg	K	P	S
24123±85	4490±36	13698±606	1776±58	2630±51

2. táblázat: Rozmaring mikroelemei

(Forrás: Musa Özcan et al., 2019)

Mikroelemek (mg/1000 g)				
Zn	Fe	Cu	Mn	Ni
19,7±1,2	136±4	6,4±0,4	56,2±0,4	2.1±0,22

3.1.4 Rozmaring élettani hatásai

A rozmaring népi gyógyászatban gyakran használatos görcsoldóként és enyhe fájdalomcsillapítóként. Emellett alkalmazható fejfájás, migrén, álmatlanság, valamint depresszió kezelésére is. Számos más pozitív tulajdonsággal is rendelkezik, mint például antimikrobiális, és gyulladáscsökkentő hatása. Rendkívül jó antioxidáns a kimagasló karnoinsav tartalma miatt, valamint képes csökkenteni a rák kockázatát, és támogatja az immunrendszert a vírusok, és fertőzések esetleges fellépésekor (Rahbardar & Hosseinzadeh, 2020).

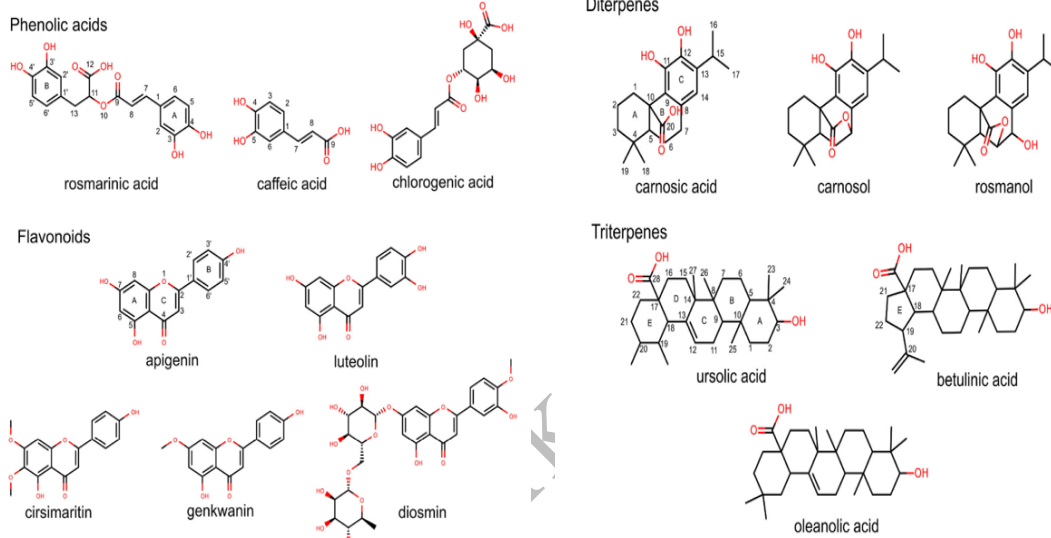
Személyes véleményem szerint, tea formájában fogyasztva javítja a koncentrációt és a memóriát. Tanulmányaim során rendszeresen fogyasztottam rozmaringból készült teát, a jobb koncentráció és a hatékonyabb tanulás érdekében.

3.1.5 Rozmaring bioaktív komponensei

A rozmaringban több bioaktív komponens is megtalálható, ilyenek például a fenolok, flavonoidok, diterpének és triterpének. A csoportokon belüli molekulák pedig a 3. ábrán láthatóak, ezeket a későbbiekben fogom ismertetni.

3. ábra: Rozmaring bioaktív komponensei

(Forrás: Lešnik et al., 2021)



3.1.5.1 Fenolos vegyületek

A fenolos vegyületek a szerves vegyületek egy olyan osztálya, amelyben a fenolcsoporthoz hidroxilcsoport kapcsolódik. Ezek a vegyületek másodlagos anyagcseretermékek összetevői, amelyek elsősorban a gyümölcsökben, zöldségekben és gabonafélékben vannak jelen. Jelentős figyelmet kaptak az élelmiszer-, gyógyszer- és kozmetikai iparban antioxidáns tulajdonságaik miatt, amelyek az emberek számára számos egészségügyi előnyt biztosítanak.

Ezek a vegyületek biológiai aktivitásuk széles skálájáról ismertek, beleértve a gyulladáscsökkentő, antioxidáns és rákellenes hatásukat. Számos pozitív egészségre gyakorolt hatásuk ismert, többek között csökkentik a neurodegeneratív betegségek, a szív- és érrendszeri betegségek, a cukorbetegség és a csontritkulás kockázatát (Suliman et al., 2023).

Az élelmiszeripar egyre nagyobb hangsúlyt fektet arra, hogy az élelmiszerek minőségét és tápértékét növelje. Több élelmiszeripari vállalat is elkezdte megismerni, és használni a növényi hatóanyagok antioxidáns alkotórészeit, mivel ezek az anyagok nagyban hozzájárulnak az egészség megőrzéséhez (Bharat Helkar et al., 2016).

A funkcionális élelmiszerek általában olyan élelmiszerek, amelyek feldolgozásra kerültek, és valamilyen egészség megőrzéséért felelős adalékanyaggal lettek ellátva. Ilyenek például a vitaminokkal és a gyógynövény-kivonatokkal dúsított élelmiszerek (Csapó & Albert, 2018).

Ezek az élelmiszerek jelentős szerepet töltenek be az élelmiszerpiacon, mivel a 21. században az egészséges életmód, nagyon elterjedt és ezáltal hatalmas trenddé nőtte ki magát. A vásárlók manapság az élelmiszereket nem csak azért vásárolják, illetve fogyasztják, hogy éhségüket csillapítsák, hanem várnak tőlük egyéb pozitív élettani hatásokat is, illetve megfelelő tápanyagigény ellátottságot (Bharat Helkar et al., 2016).

A rozmarin antioxidáns tulajdonságait fenolos vegyületeinek tulajdonítják, beleértve többek között a karnozolt a rosmanolt, a rozmarinsavat és a kávéssavat is (Teshale et al., 2022). Ezeknek a tulajdonságainak köszönhetően a rozmarinkivonatot az Európai Unió természetes antioxidánsként hagyta jóvá (Choulitoudi et al., 2017).

Egy Etiópiából származó rozmarin összes polifenol-tartalmát Frew Teshale és munkatársai Folin-Ciocalteu reagenssel mérték, és kísérletük során a rá vonatkozó TPC értéket 288,8 mg GAE/g-nak állapították meg (Teshale et al., 2022).

Egy másik kutatás során Malgorzata Moczowska és társai ugyanezzel a polifenoltartalom meghatározással $32,42 \pm 0,664$ mg galluszsav egyenérték/g szárazanyagra állapították meg az általuk használt Marokkóból származó rozmaring összes polifenoltartalmát (Moczowska et al., 2020).

Hcini Kheiria és társai 4 különböző helyről származó rozmaring polifenol-tartalmát vizsgálták, és eredményeikben mindegyik fajtára különböző értékeket kaptak. Például a Menzel Salemben gyűjtött rozmaring TPC tartalma $109,1 \pm 23,1$ mg GAE/g, míg a Senedből származóé $87,8 \pm 15,0$ mg GAE/g (Kheiria et al., 2021).

Ebből arra tudok következtetni, hogy a növény polifenol és antioxidáns tartalmát, nagyban befolyásolja az, hogy honnan származik, és ott milyen éghajlati körülményeknek veszik körül.

A rozmaringban legnagyobb mennyiségben előforduló fenolsavak a rozmarinsav, kávéssav, és a klorogénsav (Lešnik et al., 2021). Ezek a vegyületek rengeteg megdöbbentő pozitív élettani hatással bírnak, amiből most ismertetnék is egy párat.

A rozmarinsav a kávéssav észtere, ez a különleges vegyület bizonyítottan antioxidáns és gyulladáscsökkentő tulajdonságokkal rendelkezik, és a kutatások nemrégiben kimutatták, hogy képes megvédeni az agysejteket az oxigénhiánytól is (Alfieri & Mann, 2015).

Ezt követi a kávéssav, a lignin bioszintézisének másodlagos metabolitja, amely gyakran megtalálható olyan növényekben, mint a kávé, a kakukkfű, a zsálya és az olajbogyó. Ez a sav adja a kávé egyedi aromáját, de emellett olyan jótékony tulajdonságokkal is rendelkezik, mint a daganatellenes, trombocitaellenes, antioxidáns és gyulladáscsökkentő hatás (Sakai et al., 2022).

A klorogénsav pedig egy olyan fenolos vegyület, amely számos gyümölcsben és zöldségben, valamint a kávéban és teában is megtalálható. Egyes kutatások kimutatták, hogy a klorogénsav tisztító, antioxidáns és antiapoptotikus tulajdonságokkal is rendelkezik (Gagliardini et al., 2017).

3.1.5.2 A Flavonoidok

A flavonoidok a polifenolos vegyületek egy olyan csoportja, amelyek a növényi sejtek vakuólumaiban halmozódnak fel és glikozilált állapotban vannak jelen. Vízben jól oldódnak és számos egészségügyi előnnyel járnak. 1936-ban Szent-Györgyi Albert Nobel-díjas tudós és kutatótársai, köztük Rusznyák István belgyógyász, felfedezték, hogy ez a vegyületcsoport C-vitaminnal kombinálva jelentős védőhatást fejt ki az érfalakra. Ekkor a flavonoidokat esszenciális vitaminoknak (P-vitamin néven ismertek) tartották, de azóta kiderült, hogy fogyasztásuk nem szükséges az egészséghez, és már nem tekintik őket vitaminoknak. Ma már újra elfogadott, hogy szerepet játszanak a betegségek megelőzésében és az egészség megőrzésében (Pfeiffer, 2012).

A rozmaringban legnagyobb mennyiségben előforduló flavonoidok az apigenin, luteolin, cirsimaritin, genkwanin, és a diosmin (Lešnik et al., 2021).

Ezek közül szeretnék most párat részletesebben ismertetni. Az apigenin és a luteolin is egy flavon, amely elsősorban növényekben található meg. Az apigenin fellelésének néhány fő forrása a kamillatea és egyéb gyógynövények, fűszerek (Wang et al., 2019). A luteolinról pedig érdemes tudni, hogy tanulmányok szerint indukálja az oxigénfelvételt, miközben csökkenti a hidrogén-peroxid szintjét a tüdőrákos sejtekben, így többek között kemopreventatív hatással is bír (Virgolini & Aschner, 2021).

A cirsimaritint és a genkwanint, bizonyítottan antioxidáns, gyulladáscsökkentő és antiallergén tulajdonságokkal rendelkezik (Cai et al., 2020). Ezek mellett a cirsimaritin csökkenti a mellrák kialakulásának kockázatát, és antidepresszáns tulajdonságokkal is rendelkezik (El Menyiy et al., 2023).

A diosmin egy háromgyűrűs flavonoid szerkezetű molekula, amelyhez egy cukormolekula kapcsolódik. A természetben különböző citrusfélék héjában található. A diosmin mikronizált táplálkozási formuláit már több mint egy évtizede használják Európában krónikus vénás betegségek, aranyér és cukorbetegség kezelésére (Srinivasan et al., 2019).

3.1.5.3 Diterpének és triterpének

Fontosnak tartom megemlíteni a rozmaring további bioaktív komponenseinek csoportjait, a diterpéneket és triterpéneket is, mivel ezek a vegyületek is nagyban hozzájárulnak a rozmaringról alkotott pozitív kép kialakulásához.

A diterpének a terpenoidok egy osztályát alkotják, amelyek másodlagos anyagcseretermékeként ismertek mind a szárazföldi mind a tengeri szervezetekben. Kimutathatók kávéban, teában, és a *Salvia* fajokban (Arauz et al., 2017). A rozmaringban legnagyobb mennyiségben előforduló diterpének a karnozinsav, a karnozin, és a rozmanol (Lešnik et al., 2021)

A triterpének a természetes vegyületek egy változatos csoportját alkotják, amelyek számos területen, többek között az egészségügyben, az élelmiszeriparban és az ipari biotechnológiában is széleskörűen alkalmazhatók. Ezek a vegyületek e területek mindegyikén óriási jelentőséggel bírnak, és az életminőség javításában rejlő potenciáljuk jelentős (Garg et al., 2020). A rozmaringban legnagyobb mennyiségben előforduló triterpének az urzolsav, a betulinsav és az oleánolsav (Lešnik et al., 2021).

3.2 Az antioxidáns vegyületek szerepe

Az oxidatív stressz a biológiai rendszerekben egy összetett folyamat, amelyet a szabad gyökök termelődése és a szervezet azon képessége közötti egyensúlyhiány jellemez, hogy ezeket a reaktív fajokat endogén és exogén antioxidánsok felhasználásával eltávolítsa. Az anyagcserefolyamatok során sokféle reakció játszódik le, ahol a promóterek a reaktív oxigénfajok, mint például a hidrogén-peroxid és a szuperoxid-gyök anion.

Egy biológiai rendszerben a reaktív oxigénfajok túlzott jelenlétében különböző kórképek alakulhatnak ki, a szív- és érrendszeri betegségektől kezdve a rák kialakulásának kockázatáig. Ezek a rendszerek rendelkeznek antioxidáns mechanizmusokkal az enzimatis és nem enzimatis természetű károsodások szabályozására, amelyek lehetővé teszik a reaktív szabad gyökök inaktiválását. Az endogén antioxidánsok enzimek, mint a szuperoxid-dizmutáz, kataláz, glutation-peroxidáz, vagy nem enzimatis vegyületek, mint a bilirubin és az albumin. Ha egy szervezet magas reaktív oxigénfajok koncentrációnak van kitéve, az endogén antioxidáns rendszer károsodik, és ennek következtében nem képes biztosítani a szervezet teljes védelmét.

Az antioxidánsok hiányának kompenzálására a szervezet exogén antioxidánsokat használhat, amelyeket táplálékkal, táplálékkiegészítővel vagy gyógyszerekkel juttathatunk

be. A legfontosabb exogén antioxidánsok közé tartoznak a fenolos vegyületek, a karotinoidok és a C-vitamin, valamint egyes ásványi anyagok, például a szelén és a cink (Santos-Sánchez et al., 2019).

Számos élelmiszer romlik meg a szabadgyökös reakciók következtében, a legismertebb a zsírok avasodása, amely íz-, szín- és szagváltozást eredményez. Ezen kívül a kémiai reakciók során káros komponensek (ketonok, aldehidek) is keletkezhetnek, valamint a vitaminoknak és más biomolekuláknak is megváltozhat a szerkezete (Balogh, 2010).

3.3 Antioxidáns kapacitás jellemzésére használt mérőműszerek

Az antioxidáns - kapacitás pontos számszerűsítésére egyre nagyobb igény mutatkozik, ami számos mérőrendszer és analitikai módszer kifejlesztését ösztönzi. Ma már több mint száz különböző módszer létezik, a legtöbb szakirodalom mégis több módszer kombinációjára támaszkodik e komplex fogalom értékeléséhez (Gökmen et al., 2009). Ennek oka, hogy egyetlen egyedi módszer sem képes teljes mértékben figyelembe venni a természetben lejátszódó reakciók teljes körét. A különböző módszerek bizonyos antioxidánsokra vagy reakciókra összpontosítanak, de egyik sem képes pontosan mérni a teljes antioxidáns kapacitást (Balogh, 2010).

Az eddig kifejlesztett mérési módszerek két típusba sorolhatók: a hidrogénatom transzferes (HAT) és az elektronátvitteles (ET) módszer. A HAT technikák szabad gyökökre épülnek, és általában reakciókinetikán alapulnak. Ezek a vizsgálatok a minta szabadgyökfogyó képességét mérik. Az ET reakciók általában színváltozással járnak, és ennek a változásnak a nagysága jelzi a minta antioxidáns kapacitását (Apak et al., 2007). Bár ez a két mérési módszer mindkettő az antioxidáns kapacitást számítja, eredményeik nem feltétlenül egyeznek meg egymással, mivel egy minta redukáló kapacitása nem mindig azonos a minta gyökfogyó képességével (Apak et al., 2007).

3.3.1 Az összes polifenol-tartalom meghatározása Folin-Ciocalteu reagenssel

Singleton és Rossi 1965-ben kifejlesztett egy antioxidáns kapacitás meghatározására alkalmas módszert, ami később a "redukáló kapacitás" nevet kapta. A módszer alapja a 760 nm-en végzett fényabszorpciós spektrometria pH 10-es bázikus oldatban (Balogh, 2010). Előnye a költséghatékonyság, az egyszerűség, a reprodukálhatóság és a drága laboratóriumi berendezések szükségtelensége, ami alkalmassá teszi rutinszerű mérésekre (Huang et al., 2005).

Bár a módszer kémiai háttere nem teljesen ismert, azt találták, hogy a zavaró komponensek abszorbanciája az alkalmazott hullámhosszon jelentéktelen. Továbbá az ebben a módszerben használt lúgos pH nem megfelelően reprodukálja a fiziológiai körülményeket, ugyanakkor a módszer nem szelektív a különböző polifenolos komponensekre, függetlenül azok szerkezetétől. Megjegyzendő továbbá, hogy az így kapott értékeket befolyásolja az aszkorbinsav és a rézion jelenléte (Balogh, 2010).

A méréseim során vizsgált rozmaringlevél-kivonatok várhatóan olyan antioxidánsokat tartalmaznak, amelyeket a Folin-Ciocalteu-reagensben jelen lévő sárga Mo (IV)-ion felvesz, majd kék Mo (V)-ionná redukálódik. A keletkező kék színű vegyületet pedig 760 nm-en vizsgálom meg, spektrofotometriásan. Ez a módszer a fenolok mellett a vízben oldódó, és az elektron leadásra képes antioxidánsok mérésére is alkalmas (Hegedűs, 2013).

3.3.2 Az antioxidáns-tartalom meghatározása FRAP módszerrel

Benzie és Strain (1996) módszerét a mintában lévő antioxidánsok szintjének mérésére fejlesztették ki. A technika alapelve a vas-2,4,6-tripiridil-S-triazin (TPTZ) komplexnek a jelen lévő antioxidánsok által történő redukcióján alapul, ami látható színváltozáshoz vezet. Az antioxidánsok képesek a ferri-ionokat (Fe^{3+}) ferro-ionokká (Fe^{2+}) redukálni. Ezen reakció során a TPTZ (2,4,6-tripiridil-S-triazin) komplexképző segítségével oldatban tartott ferro-ionok képződnek. A spektrofotometriás mérés során a keletkező kék színt 593 nm-es hullámhosszon követjük nyomon (Benzie és Strain, 1996).

Fontos kiemelni, hogy ez a módszer rendkívül előnyös, mivel egyszerű, gyors és reprodukálható eredményeket nyújt, miközben nem igényel drága laboratóriumi felszerelést. Emiatt a legelterjedtebb és leggyakrabban alkalmazott mérési módszerek közé tartozik (Apak et al., 2007). Ugyanakkor érdemes megjegyezni azt is, hogy a reakció a fiziológiai pH szint alatt, azaz enyhén savas pH tartományban (pH 3,6) zajlik, ami miatt a módszer nem érzékeny a tiol típusú antioxidánsokra. Minden olyan komponens, aminek a redoxpotenciálja 0,77 V-nál kisebb képes redukálni a vasiont, ezért a módszer nem csak antioxidánsokat jelezhet (Balogh, 2010).

3.4 Extrakció

Az extrakció egy olyan folyamat, amely során egy szilárd vagy folyékony keverékből, a kívánt értékes, vagy káros komponens szelektív kioldását végezzük el egy folyékony oldószer segítségével.

Az extrahálás során három alapvető feladatot kell elvégezni. Először is, szükséges az intenzív érintkeztetés és keverés a leadó fázis és a felvevő oldószer között. Ez azért fontos, hogy az anyagok hatékonyan összekapcsolódjanak, és az értékes komponens az oldószerbe kerüljön.

Másodszor kritikus jelentőségű a megfelelő időtartam biztosítása az extrahálás során annak érdekében, hogy az értékes komponens anyagtranszportja megtörténhessen a két fázis között. Ez az időszak lehetővé teszi az anyagok számára, hogy hatékonyan átjussanak az egyik fázisból a másikba.

Végül, az extrahálás folyamatának befejezéséhez szükséges a két fázis, a raffinátum és az extraktum, szétválasztása. Ennek a lépésnek a célja az, hogy az értékes komponent elkülönítsük a többi komponentől, így további felhasználásra vagy feldolgozásra használható (Cséfalvay & Mika, 2008).

Az extraháló oldószerek kiválasztásánál több fontos szempontot kell figyelembe venni, ezeket fogom most röviden ismertetni. Elsősorban az oldószernek hatékonyan kell oldani az értékes komponent, és ezt nagy szelektivitással is kell tennie.

Fontos, hogy a hordozó és az extraháló oldószerek között minimális oldódás történjen, valamint az oldószernek könnyen elválaszthatónak kell lennie az extraktumtól.

A sűrűség és a forráspont különbségnek is nagyoknak kell lennie a két anyag között, hogy hatékonyan szétváljanak egymástól. Továbbá elvárás az oldószerrel szemben, hogy ne tegyen kárt a kivonatban, és ne lépjen kölcsönhatásba vas és egyéb fémfelületekkel. Nem utolsó sorban pedig korrozív, mérgező vagy tűzveszélyes tulajdonságoktól mentesnek kell lennie, és lehetőleg alacsony áron lehessen beszerezni (Fábry, 1995; Sattler és Feindt, 1995).

3.4.1 Extrakciók csoportosítása

Az extrakciós folyamat módja függ a leadó fázis jellegétől, ami lehet szilárd vagy folyékony állapotú. Ennek megfelelően három fő típusú extrakciót különböztetünk meg.

Az első típus a folyadék-folyadék extrakció, amikor mind a leadó fázis, mind a felvevő fázis folyadék állapotú. Ebben az esetben az extrakciót ezen két folyadék között végzik el. A második típus a szilárd-folyadék extrakció, amit gyakran "kilúgozásnak" vagy "drogextrakciónak" is neveznek. Itt a leadó fázis szilárd anyag, és az extrakciót folyékony oldószer segítségével hajtják végre, hogy az értékes komponensek kioldódjanak. Végül, van egy speciális eset, a szuperkritikus extrakció, ahol a leadó fázis általában szilárd, míg az extraháló oldószer nagynyomású gáz formájában van jelen. Ez a módszer egy különleges technika, amelyet szuperkritikus állapotú anyagok kinyerésére használnak (Cséfalvay & Mika, 2008).

3.4.2 Szilárd-folyadék extrakció

A méréseim során a szilárd-folyadék extrakciót használtam, így a továbbiakban ezt a módszert fogom részletesebben ismertetni.

A szilárd-folyadék extrakció olyan folyamat, amely során szilárd anyagból szelektíven oldunk ki egy vagy több komponenst. Ebben a folyamatban a diffúzió játsza a kulcsfontosságú szerepet, mivel az extraháló oldószer az anyagba diffundál, behatolva annak szerkezetébe. Ugyanakkor a szilárd anyagból az oldat is diffúzió útján távozik, vagyis a kioldódott komponensek elterjednek az oldatban (Toledo, 2007).

Tapasztalataim alapján a nagyobb hatékonyság érdekében a szilárd-folyadék extrakciót általában magasabb hőmérsékleten érdemes végezni, mert ez lehetővé teszi az oldószer hatékonyabb behatolását a szilárd anyagba, és így megkönnyíti a komponensek kinyerését.

A szilárd-folyadék extrakció rendkívül sokoldalú eljárás, melyet számos területen alkalmaznak. Például a cukoriparban használják a cukor hatékony kinyerésére a cukorrépból meleg vízzel (Toledo, 2007). Emellett a gyógynövényekből hatóanyagok kivonása is lehetséges vele (Rizvi, 2010), melyeket később gyógyszerkészítményekben vagy kozmetikai termékekben alkalmaznak. Végül, fűszerekből is készíthetünk kivonatokat ezzel a módszerrel, az ételek ízesítéséhez vagy parfümök készítéséhez (Cséfalvay & Mika, 2008). Ezek a példák jól mutatják az eljárás sokoldalúságát és alkalmazásait különböző iparágakban és területeken.

3.5 Mikrohullámú extrakció

A mikrohullámok az elektromágneses spektrumban a 300 MHz és 300 GHz közötti frekvenciatartományba eső sugárzást jelentik, elhelyezkedve a rádióhullámok és az infravörös tartomány között. A hullámhosszuk 1 m és 1 mm között változhat, és ipari alkalmazásokhoz általában a 915 MHz-es, míg analitikai és kémiai vizsgálatokhoz a 2450 MHz-es frekvencia a gyakran használt (Sik, 2021).

A mikrohullámmal támogatott extrakció elve elsősorban a mikrohullámok poláros molekulákra gyakorolt közvetlen hatásán alapul, ionvezetés és dipólusforgatás révén. A poláris molekulák, mint például a polifenolok, állandó dipólusmomentumuk miatt különösen érzékenyek a mikrohullámú energiára. A hagyományos extrakciós módszerekkel ellentétben a mikrohullámú extrakció a sejtek szerkezetének elektromágneses hullámok segítségével történő megváltoztatásával működik, ahelyett, hogy a folyamatot hőenergiára alapozná (Sik, 2021).

Az elmúlt években a mikrohullámú extrakció kiemelkedő figyelmet kapott, különösen a gyógynövények területén. Ennek oka az egyedülálló fűtési mechanizmusa, költséghatékonysága és kiváló teljesítménye légköri körülmények között. A mikrohullámú extrakció legfőbb előnye a fűtőforrás hatékonyságában rejlik. Az eredeti zárt és nyitott mikrohullámú extrakciós rendszereken túl az elmúlt évtizedek során több módosítást is bevezettek a hatékonyság növelése érdekében. Ezek a legújabb technológiai fejlesztések jelentős javulást eredményeztek a mikrohullámú extrakció reprodukálhatóságában, és ennek köszönhetően ez a módszer elengedhetetlen eszközzé vált a növényi kivonatok előállításában (Bellumori és mtsai., 2016).

3.6 Kísérletterv kidolgozása

A kísérlet sikeres elvégzéséhez, valamint a legjobb eredmények eléréséhez, elengedhetetlen az optimalizálás folyamata. Ezeknek az optimalizációs kísérleteknek az a célja, hogy feltárja azt, hogy hogyan alakul ki a független és a függő változók közötti kapcsolatrendszer, valamint, hogy a független bemeneti faktorok különböző beállított értékei milyen hatással vannak a függő változókra (Dévay, 2013).

A faktor egy olyan mérhető vagy minősíthető változó, amely specifikus jellemzőkkel rendelkezik egy adott időpontban, és képes befolyásolni a vizsgált folyamat más mennyiségeit vagy jellemzőit. A faktorokkal szemben támasztott elvárások közé tartozik, hogy hatásuk közvetlenül az objektumra irányuljon, tehát legyen egyértelmű. Emellett fontos a függetlenség, ami alatt azt értjük, hogy a faktorok egymástól függetlenül is képesek legyenek hatni a vizsgált

objektumra. Továbbá az összeegyeztethetőség is kulcsfontosságú, mivel a faktoroknak összhangban kell működniük a vizsgált folyamat, vagy rendszer teljes működésével (Johanyák, 2002).

A kísérletterv egy tervezett elrendezést tartalmaz a próbák beállításával és a végrehajtandó sorrenddel, amelyek segítségével végül képesek vagyunk a folyamatot megfelelő pontossággal modellezni. Ebben a folyamatban a bemeneti változókat rendszeresen módosítjuk egy előre meghatározott tartományon belül, miközben figyelemmel kísérjük, hogy ezeknek a változóknak a hatása a függő változóra megbecsülhető legyen, és súlyukat ellenőrizhetővé tegyük (Dévay, 2013).

A kísérlettervezés során a legfontosabb lépés a megfelelő terv kiválasztása. Az évek múlásával különböző tervmódszerek alakultak ki, például teljesen randomizált terv, randomizált blokkos terv, teljes faktoros terv, középpontos terv és még sok más. Minden módszernek saját előnyei és alkalmazási területei vannak. Az én esetemben a teljes faktoros terv volt a legmegfelelőbb választás, ami azt jelenti, hogy a vizsgált faktorok teljes kombinációját vizsgálni tudom. Ezenkívül a középpontos mérések mellett 2^p mérést kell végrehajtanom a megfelelő kiértékeléshez. Ez a megközelítés lehetővé teszi a vizsgált faktorok hatásainak részletes elemzését, és a folyamatmodellezéshez szükséges adatok gyűjtését.

A szakdolgozatom elkészítése során különböző lépéseken mentem keresztül a kísérlettervem sikeres összeállításához. Első lépésben meghatároztam a szakdolgozatom célját, majd a megfelelő mennyiségű szakirodalom tanulmányozása után kiválasztottam a kísérleti változókat és a hozzájuk tartozó szinteket. Végül összeállítottam a kísérleti tervet, melynek célja a legpontosabb eredmények elérése volt. Miután ez a kísérletterv elkészült, belevetettem magam a mérések végrehajtásába a laboratóriumban.

4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

4.1 Alkalmazott anyagok

A kísérlet elvégzéséhez Magyarországon, saját kertészetünkben termesztett rozmaryingot használtam fel. A rozmarying ágakat szárítás előtt alaposan megtisztítottam, és állandó szellőztetés mellett, szobahőmérsékleten szárítottam.

4.2 Felhasznált vegyszerek és reagensek

A méréseim során a mikrohullámú extrakcióhoz izopropanol-desztillált víz elegyet használtam oldószerként. Ezeken kívül a következő vegyszereket, és reagenseket 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.

4.3 Előkísérlet folyamata és eredményei

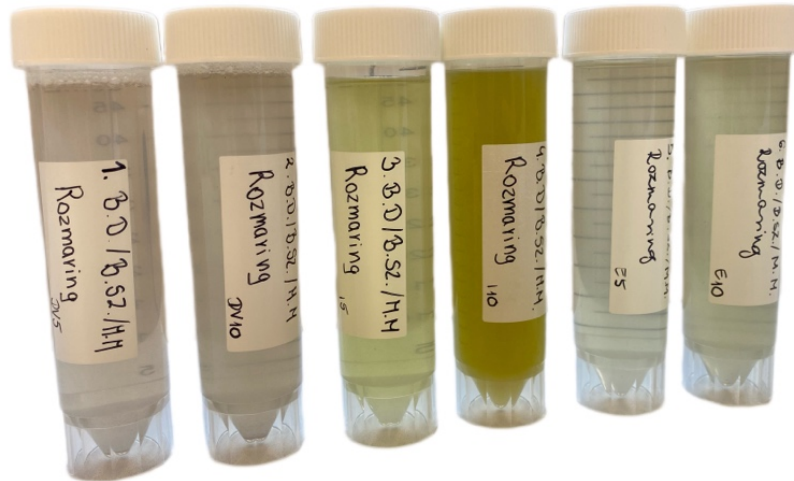
Ahhoz, hogy eldöntsem, melyik oldószert érdemes használnom, előkísérleteket végeztem. Az előkísérletben három féle oldószert vizsgáltam ezek a desztillált víz, 50 V/V%-os etanol, és 50 V/V%-os izopropanol voltak.

Célom az előkísérlettel az volt, hogy kiválasszam azt az oldószert, amivel a leghatékonyabban tudom kioldani a rozmarying értékes komponenseit, és amivel a legrelevánsabb eredményeket kaphatom az antioxidáns, és polifenol-tartalom mérésénél.

Az előkísérlet során kizárólag egy paramétert változtattam, ez pedig az idő volt. Azonos mennyiségű mintával és térfogatú oldószerral végeztem az extrakciót, 5 és 10 perces időintervallumban, 450 W teljesítményen. A mérések közben minden perc elteltével 2 perces hűtést is alkalmaznom kellett, a minták túlmelegedésének, elkerülése érdekében. A minta, illetve a hűtővíz hőmérsékletét is állandóan monitoroztam, így el tudtam kerülni a túlmelegedést. Az így kapott minták láthatóak a 4. ábrán. Balról jobbra haladva láthatjuk elsőként az 5 perces kezelt desztillált vizes oldatot, majd azt követi ennek a 10 perces verziója. A harmadik tárolóban az 5 perces izopropanollal extrahált minta látható, mellette pedig a 10 perces kezelés eredménye. Az utolsó két mintatárolóban pedig az etanollal készült oldatok láthatóak, ugyanígy 5 és 10 perces kezelési időt alkalmazva.

4. ábra: Oldószer kiválasztás során kapott extraktumok

(Forrás: saját készítésű fotó)



Az extraktumok elkészítése után elvégeztem az antioxidáns kapacitás, illetve az összes polifenol-tartalom meghatározására vonatkozó eljárásokat, és az eredmények alapján arra a döntésre jutottam, hogy az izopropanolt fogom használni oldószerként. Az etanollal történő extrakciónál észlelhető volt némi színváltozás, viszont a desztillált vizes oldatban ez a színváltozás elenyészőnek tekinthető. Az izopropanolos oldatnál nagyon erős színreakció volt jelen, ez jól látható a 5. ábrán, így ezért is esett erre az oldószerre a választásom.

5. ábra: Előkísérleti mintákon végzett FRAP módszer eredményei

(Forrás: saját készítésű fotó)



4.4 Kísérletterv ismertetése

A végső kísérlettervben három paramétert változtattam a méréseim során, ezek voltak a desztillált víz-izopropanol koncentrációja, a berendezés teljesítménye, illetve a minta kezelési ideje.

Az oldószer koncentrációját a következőképp változtattam: 10, 50 és 90 V/V%, a berendezéssel pedig 100, 450 és 800 W teljesítményen végeztem a mérést, és utolsó sorban a minták kezelési ideje 2, 6 és 10 perc volt. A legtöbb ezzel foglalkozó cikkben a kezelési idő 0,5 és 3 óra között helyezkedett el, viszont ezeknél a méréseknél általában nem volt fixálva a mikrohullám teljesítménye. Valamint a kezelési idő függ a minta mennyiségétől is. A hűtési idő továbbra is 2 perc maradt. Összesen 20 mérést végeztem véletlenszerű sorrendben, ebből 6 darab középponti mérés volt, ami ebben az esetben azt jelenti, hogy 50 V/V%-os koncentrációjú oldószerben, 6 percig 450 W-on kezeltem a mintát. Az extrakciók során ügyeltem arra, hogy ne melegedjen túl az oldat, és ne roncsolódjanak a rozsmaring értékes komponensei.

4.5 Extraktum készítés

A szobahőmérsékleten megszáritott rozmaring levelekből, mikrohullámú extrakcióval vontam ki az értékes komponenseket, amikből ezután meg tudtam határozni az összes polifenoltartalmat, valamint az antioxidáns kapacitást.

A mérés elvégzéséhez az olvasott szakirodalmak alapján 0,06g/ml oldószerarányt választottam. Ez a gyakorlatban azt jelentette, hogy 18 g száritott rozmaringhoz adtam 300 ml-t, a megfelelő oldószerkeverékből. A minták bemérése egy főzőpohárba történt, majd ezután elkészítettem a méréshez tartozó oldószerkeveréket mérőhengerek segítségével, végül ráöntöttem az oldatot a mintára. Lefedtem a főzőpoharat egy óraüveggel a párolgási veszteség csökkentése érdekében, majd behelyeztem a mintát a mikrohullámú berendezésbe. Beállítottam a méréshez kapcsolódó teljesítményt és időt, majd percenként ellenőriztem az extraktum hőmérsékletét üveg hőmérővel, és alkalmaztam rajta a 2 perces hűtést, amely során szintén figyeltem a hőmérsékletet.

A mérés végeztével egy fém szűrő segítségével leszűrtem az így kapott extraktumokat, majd mintatartókba töltöttem, és fagyasztoóban $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltam a további kísérletek elvégzéséig.

4.6 Összes polifenol-tartalom meghatározása Folin-Ciocalteu reagenssel (TPC)

Az elkészített extraktumokban lévő összes polifenol-tartalmat Singleton és Rossi (1965) által leírt módszer alkalmazásával határoztam meg.

A mérés elvégzéséhez a következő vegyszereket használtam:

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

A mérés megkezdése előtt kalibrációt végeztem galluszsav oldattal, annak érdekében, hogy a TPC értékeket meg tudjam határozni a későbbiekben. Az oldatokat a kémcsövekben a 3. táblázatban található adatok alapján állítottam össze, majd egy 5 perces vízfürdőt követően spektrofotométerrel megmértem a kalibráló sor fényelnyelését 760 nm-en. A kalibrációs oldatsorban a kék szín intenzitása, a galluszsav oldat mennyiségének növekedésével arányosan nőtt, ez figyelhető meg a 6. ábrán.

3. táblázat: Kalibrációs oldatsor a TPC értékek 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

6. ábra: TPC értékek kiszámításához szükséges kalibráló oldatsor

(Forrás: saját készítésű fotó)



Az extraktumokat kiolvastottam, majd a mérés megkezdése előtt 6000 rpm-en centrifugáltam (Hermle Labortechnik Z 206 univerzális laboratóriumi centrifuga), így a szilárd és folyékony fázis jól elkülönült egymástól. A centrifugálás után a minták felülúszóját pipettáztam át a kémcsövekbe, így tiszta extraktumokkal tudtam elvégezni a méréseket.

A rozmarin extraktumokban található összes polifenol-tartalom meghatározásához a következő eljárást alkalmaztam: Minden minta esetében 2500 µl Folin-Ciocalteu oldatot, 400 µl metilalkohol-desztillált víz keveréket (4:1 arányban), és 100 µl mintát mértem be egy kémcsőbe. Pontosan 1 perc elteltével 2000 µl 0,7 M nátrium-karbonát oldattal állítottam le a reakciót. Az össztérfogat ekkor 2500 µl volt minden esetben. Minden mintából három párhuzamos mérést végeztem. A kémcsöveket ezt követően 5 percig egy 50 °C-os vízfürdőbe (Lauda E100 Ecoline 011) helyeztem. A vízfürdő után a kémcsövekből küvetákba öntöttem az ekkor már kék színű vegyületet, majd $\lambda=760$ nm-es hullámhosszon Hach DR2400 kézi spektrofotométerrel meghatároztam az abszorbanciáját. Az abszorbancia értékekből minden minta esetében átlagot vontam, majd az összes polifenol-tartalmat, a mérés során kapott kalibrációs görbe alapján a következő képlet alkalmazásával számoltam ki, és adtam meg mg galluszsav egyenérték/l-ben:

$$TPC \text{ mennyiség: } \frac{\lambda_{minta} \cdot V_{\text{összes}}}{tg\alpha \cdot V_{\text{extraktum}}} \cdot Hf \quad (1)$$

λ_{minta}	az adott minta abszorbanciája (-)
$V_{\text{összes}}$	a vizsgált mennyiség össztérfogata (ml)
$tg\alpha$	a kalibrációs egyenes meredeksége (-)
$V_{\text{extraktum}}$	az extraktum térfogata (ml)
Hf	a hígítási faktor (-)

A TPC mérések eredményei és azok színekben való megnyilvánulása látható a 7. ábrán, ahol jól megfigyelhető a minták közötti TPC értékek eltérése.

7. ábra: TPC mérések eredményei

(Forrás: saját készítésű fotó)



4.7 Antioxidáns kapacitás mérése FRAP módszerrel

A kivonatokban lévő antioxidáns aktivitást Benzie és Strain (1996) FRAP azaz vasredukálóképesség vizsgáló módszere alapján végeztem el.

A mérés elvégzéséhez a következő vegyszereket használtam:

- Acetát-puffer: 3,10 g kristályvizes nátrium-acetátot és 16,0 ml 96%-os ecetsavat összemértem majd desztillált vízzel 1000 milliliterre egészítettem ki egy mérőlombikban;
- Triazin-oldat (TPTZ): 0,0781 g 2,4,6-tri (2-piridil)-s-triazint és 84,0 μ l sósavat (37 %) mértem egy 25 milliliteres mérőlombikba, majd desztillált vízzel jelre töltöttem;
- Vas-klorid oldat: 20 mM koncentrációjú oldat elkészítéséhez 0,135 g kristályvizes vas (III)- kloridot ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) feloldottam 25 ml desztillált vízben;
- Kalibrációhoz szükséges aszkorbinsav-oldat: 10 mM koncentrációjú oldat elkészítéséhez 17,163 mg szilárd aszkorbinsavat mértem be egy főzőpohárba, majd ezután 10,0 ml desztillált vizet adtam hozzá, az 1 mM koncentrációjú elegy elkészítéséhez pedig 1 ml 10 mM aszkorbinsav-oldathoz 9 ml desztillált vizet adtam;
- FRAP-reagens: a reagens elkészítéséhez összekevertem 250 ml acetát-puffert, 25 ml vas-klorid oldatot és 25 ml TPTZ-oldatot.

A mérés megkezdése előtt kalibrációt végeztem aszkorbinsav oldattal, annak érdekében, hogy az antioxidáns aktivitást meg tudjam határozni a későbbiekben. Az oldatokat a kémcsövekben a 4. táblázatban található adatok alapján állítottam össze, majd 5 perc elteltével spektrofotométerrel megmértem a kalibráló sor fényelnyelését 593 nm-en. A kalibrációs oldatsorban a kék szín intenzitása, az aszkorbinsav oldat mennyiségének növekedésével arányosan nőtt, ez figyelhető meg a 8. ábrán.

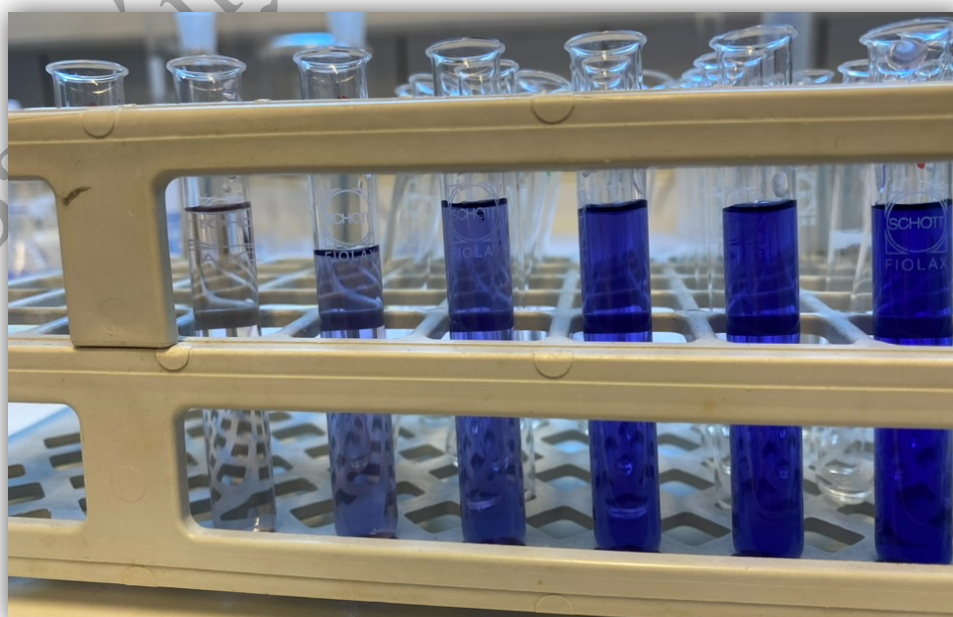
4. táblázat: Kalibrációs oldatsor a TAC értékek meghatározásához

(Forrás: saját munka)

Kémcső sorszáma	FRAP-reagens (μl)	Aszkorbinsav-oldat (μl)	Desztillált víz (μl)
1.	3000	0	100
2.	3000	0	100
3.	3000	20	80
4.	3000	40	60
5.	3000	60	40
6.	3000	80	20
7.	3000	100	0

8. ábra: TAC értékek kiszámításához szükséges kalibráló oldatsor

(Forrás: saját készítésű fotó)



Az extraktumokat kiolvasztottam és a mérés megkezdése előtt 6000 rpm-en centrifugáltam (Hermle Labortechnik Z 206 univerzális laboratóriumi centrifuga), és a továbbiakban a minták felülúszóját pipettáztam a kémcsövekbe.

A rozmarying kivonatokban lévő antioxidáns aktivitás meghatározásához a következő eljárást alkalmaztam: Az összes minta esetében 3000 µl FRAP reagenst, 60 µl desztillált vizet, és 40 µl mintát tettem egy kémcsőbe. Pontosan 5 perc elteltével a kémcsövekből küvettkba töltöttem a vegyületeket majd spektrofotométer segítségével $\lambda=593$ nm-en megmértem minden minta abszorbanciáját. Minden mintából három párhuzamos mérést végeztem, majd ezekből átlagot vontam, és a TAC értéket az előbbieken bemutatott kalibrációs egyenessel határoztam meg, mg aszkorbinsav egyenérték/l mértékegységben a következő képlet segítségével:

$$\text{Antioxidáns kapacitás: } \frac{\lambda_{\text{minta}} \cdot V_{\text{összes}}}{tg\alpha \cdot V_{\text{extraktum}}} \cdot Hf \quad (2)$$

V_{minta}	az adott minta abszorbanciája (-)
$V_{\text{összes}}$	a vizsgált mennyiség össztérfogata (ml)
$tg\alpha$	a kalibrációs egyenes meredeksége (-)
$V_{\text{összes}}$	az extraktum térfogata (ml)
Hf	a hígítási faktor, jelen esetben (-)

4.8 Kiértékelés

A mérések során a Design Expert 11.1.0.1 próbaverzióját (Stat-Ease, Inc.) használtam az adatok kiértékeléséhez. Az elrendezés Central Composite Design (CCD) volt. Ez az elrendezés egy kísérlettervezési módszer, amely lehetővé teszi a faktorok hatásának részletes elemzését, és a Design Expert szoftver segít a kapott adatok hatékony kiértékelésében és folyamatmodellezésben.

5. A KÍSÉRLET EREDMÉNYEI ÉS KIÉRTÉKELÉSÜK

5.1 Statisztikai kiértékelés

A szakdolgozatom elkészítésének során elemeztem a FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) módszer által mért TAC (Total Antioxidant Capacity) és TPC (Total Phenolic Content) tartalom változásait bizonyos faktorok hatására. A kísérlet fő kérdése az volt, hogy vajon gyakorolnak-e valamilyen hatást az idő, a teljesítmény szintje és az oldószer koncentrációja a függő változókra, és ha igen, akkor ezt milyen mértékben és irányban teszik. Méréseim során a függő változók az antioxidáns kapacitás és a teljes polifenol-tartalom voltak. A faktoroknak három szintjét jelöltem ki:

- idő 2; 6; 10 [perc]
- teljesítmény 100; 450; 800 [W]
- oldószer koncentráció 10; 50; 90 [V/V%]

A próbaméréseim során az extrahálások közben szükséges hűtési gyakoriságot tudtam meghatározni, illetve az oldószer térfogatának mérésével megnéztem, hogy jelentős-e a párolgási veszteség, és kiválasztottam az általam használni kívánt oldószert. Ezen tapasztalatok, és a szakirodalomban olvasott információk alapján állítottam fel a mérés során alkalmazott paraméterek tartományait.

A munkám során teljes faktoriális kísérletet alkalmaztam, ami egy olyan módszer, amely lehetővé teszi több különálló faktor, és ezek együttes hatásának vizsgálatát egy minőségi jellemzőre nézve. Ellenben az egyfaktoros módszerrel, itt egyszerre több faktort is változtatunk. Ennek köszönhetően lehetőség nyílik a különböző beállítások által létrehozott középértékek és hatások számítására (Johanyák, 2002).

A szakdolgozatom készítése során a Design Expert 11.1.0.1. próbaverzióját (Stat-Ease, Inc.) használtam az adatok kiértékeléséhez. Abból eredően, hogy kizárólag mennyiségi faktorokkal dolgoztam a kutatásom alatt, a kísérlettervezéshez válaszfelület módszert alkalmaztam. Az eredmények a háromdimenziós (3D) ábrázolása sokkal informatívabb lehet, mint a kétdimenziós megjelenítés, és lehetővé teszi a kiválasztott független változók és a két függő változó együttes hatásának vizsgálatát. A középponti méréseket érdemes beépíteni, mivel lehetőséget nyújtanak a véletlen hibák varianciájának független becslésére a teljes faktoros tervezés során, amely tartalmazza a középponti méréseket is.

Egy 2^p típusú teljes faktoros kísérlettervet alkalmaztam, amelyhez 6 db középponti mérést is végeztem, melyeket egyenletesen osztottam el a felállított kísérlettervben.

Ahhoz, hogy a kísérlettervem kiértékelhető legyen, meg kellett adnom a változó paraméterek középszintjét és azt az intervallumot, amivel az eltérő változókra vonatkozó alsó és felső határ is meghatározható.

5.2 Polifenol-tartalom elemzése

A mérési adataimra helyezett négyzetgyökös transzformáció után, a Fit summary azaz illeszkedési összefoglaló táblázatot vettem alapul a kiértékelés elkezdéséhez, amit az 5. táblázatban mutatok be. Jól látható, hogy a táblázatban vastagon szedett négyzetes (quadratic) modellt ajánlotta a program a legmegfelelőbbnek, így a továbbiakban ezzel dolgoztam. A Lack of Fit az illeszkedés hiányára utaló érték. A statisztikai p-értéke egy olyan szám, ami megfelelően illeszkedő modell esetén > 0,1 vagyis jelentéktelen illeszkedési hiányra következtet. Az én esetemben ez a szám 0,4479, ami már egy jó értéknek mondható. A korrigált és korrigálatlan R² értékek különbsége kisebb 0,2-nél, így a modell ebből a szempontból is megfelelő.

5. táblázat: Fit summary táblázat TPC értékekre

(Forrás: saját munka)

Source	Sequential p-value	Lack of Fit p-value	Adjusted R ²	Predicted R ²	
Linear	0,0001	< 0,0001	0,6781	0,3357	
2FI	< 0,0001	0,0266	0,9818	0,8851	
Quadratic	0,0011	0,4479	0,9956	0,9783	Suggested
Cubic	0,4479		0,09958		Aliased

Az ANOVA tábla a TPC (Total Phenolic Content) tartalom kiértékeléséhez a 6. táblázatban található. A 9 tagból álló modelletem 7 tagra kellett csökkentenem, ugyanis az *idő*² és a *teljesítmény*² modell p-értéke 0,05-nél nagyobb szám volt, ez pedig rontotta a modell jóságát. Ezt követően kaptam egy olyan modellt, aminek mind a 7 tagja jóval a meghatározott 0,05-os szignifikancia szint alatt van, így ezek a hatások mind szignifikánsnak mondhatóak a statisztikai próba szerint. A 6. táblázat alapján a modell F-értéke 397,88, ebből adódóan 0,01%

az esélye annak, hogy az F-érték zajból vagy mérési hibából eredne. A p-érték is ugyanígy megfelelő, mivel értéke kisebb mint 0,0001, tehát szignifikánsnak mondható a modell.

6. táblázat: Csökkentett kvadratikus modellre vonatkozó ANOVA tábla TPC mérésénél

(Forrás: saját munka)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	152,24	7	21,75	397,88	< 0,0001	significant
Idő	14,85	1	14,85	271,71	< 0,0001	
Teljesítmény	43,35	1	43,35	793,11	< 0,0001	
Koncentráció	19,25	1	19,25	352,18	< 0,0001	
Idő*Teljesítmény	1,30	1	1,30	23,75	0,0005	
Idő*Koncentráció	12,15	1	12,15	222,22	< 0,0001	
Teljesítmény*Koncentráció	11,61	1	11,61	212,31	< 0,0001	
Koncentráció²	1,26	1	1,26	23,00	0,0006	
Residuals	0,6013	11	0,0547			
Lack of Fit	0,4212	6	0,0702	1,95	0,2405	not significant
Pure Error	0,1801	5	0,0360			
Cor Total	152,85	18				

Az összefüggés a független változók és a polifenol-tartalom négyzetgyöke között a következőképp néz ki:

$$\sqrt{TPC} = 8,10 + 0,0473 \cdot t + 0,0039 \cdot P - 0,0296 \cdot c - 0,0004 \cdot t \cdot P + 0,0096 \cdot t \cdot c + 0,0001 \cdot P \cdot c - 0,0003 \cdot c^2 \quad (3)$$

ahol:

t	idő	[perc]
c	koncentráció	[V/V%]
P	teljesítmény	[W]

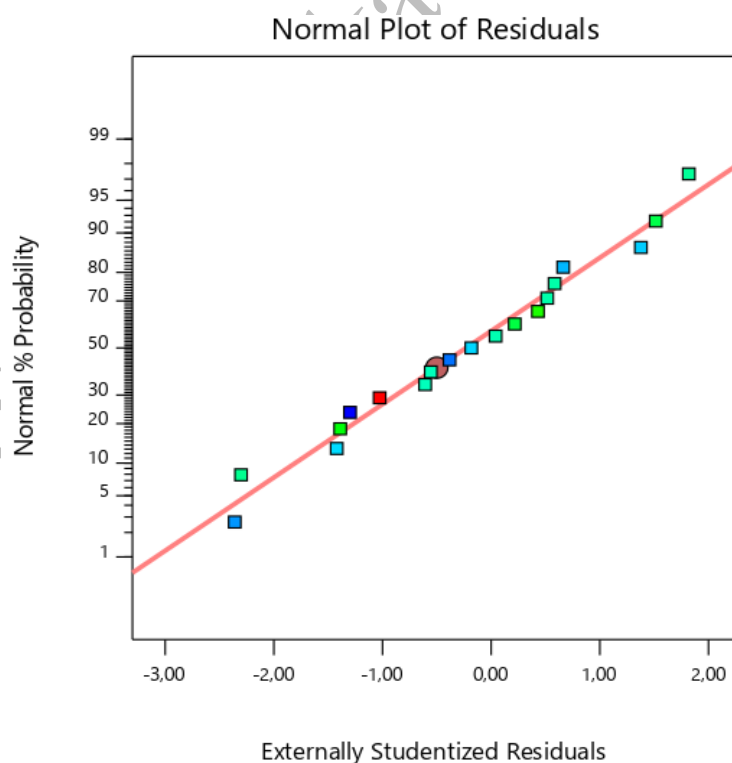
Ezzel az egyenlettel kiszámolható a várható polifenol-tartalom, ha behelyettesítjük az általunk beállított paramétereket, azonban a képlet csak akkor működik, ha az általunk használt faktor értékek az alábbi tartományokba tartoznak, illetve azonos mértékegységben vannak megadva:

- Kezelési idő: 2-10 perc
- Berendezés teljesítménye: 100-800 W
- Izopropanol-desztillált víz oldószer koncentráció: 10-90 V/V%

A modellem megfelelőségét a *Normal plot of residuals* diagrammal ellenőriztem, ami a 9. ábrán látható. Jól megfigyelhető, hogy a mérési adatok a 45°-os egyenes mentén helyezkednek el, és feltűnően kiugró pont az egyeneshez viszonyítva nem jelenik meg az ábrán. A reziduumok eloszlása is normális, nincs következetes eltérés köztük.

9. ábra: TPC értékekre vonatkozó Normal plot of residuals diagram

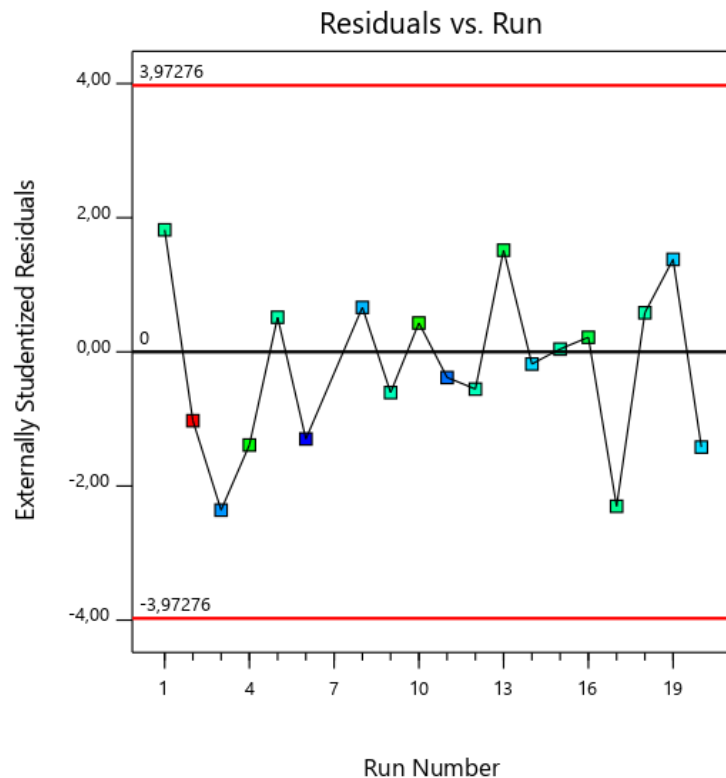
(Forrás: saját munka)



A 10. ábrán a mérések egymástól való függetlensége látható. Mivel a piros vonalon túlnyúló kiugró érték nem látható, és az értékek nagyjából egy vonal mentén helyezkednek el a modell ezen része is megfelelt az előírásoknak.

10. ábra: TPC értékek egymástól való független eloszlása

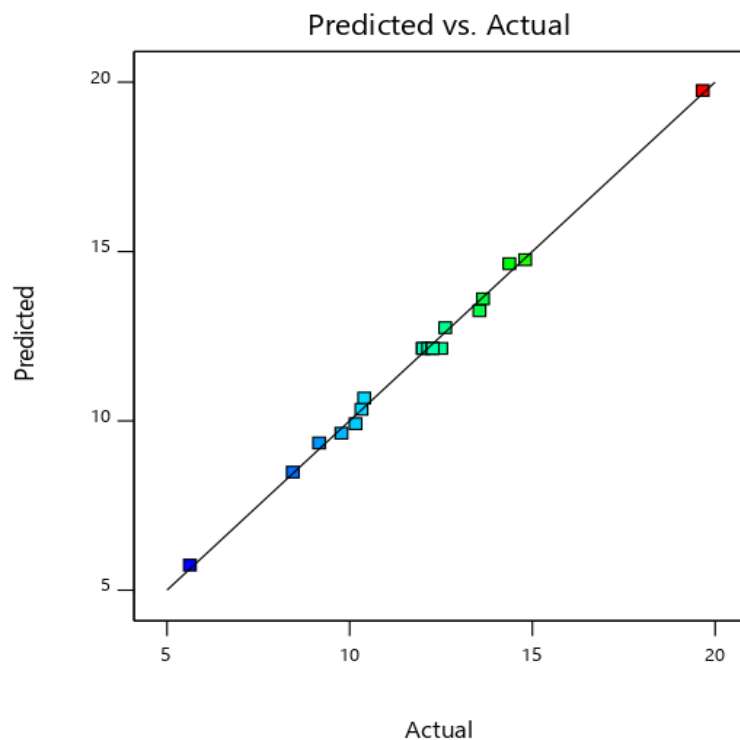
(Forrás: saját munka)



A tényleges és előrejelzett TPC értékek a 11. ábrán láthatóak. Ez az ábra megmutatja a modell előrejelzett értékeit és az általunk mért értékeket. Minél pontosabb a mérés, annál jobban illeszkednek az értékek a fekete egyenesre. Az én esetemben jól látható, hogy az összes pont az egyenes közvetlen környezetében van, sok közülük teljesen illeszkedik is a vonalra. Ebből adódóan ismét megfelelőnek bizonyult a modell.

11. ábra: Előrejelzett és tényleges TPC értékek

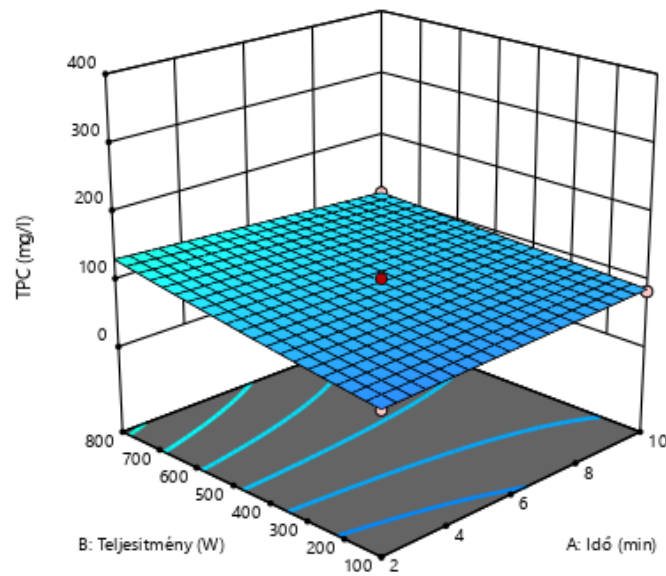
(Forrás: saját munka)



A 12. ábrán egy 3D modell látható, ami a teljesítmény és idő hatását mutatja meg, 10 V/V%-os oldószer koncentráció mellett. A 2 percig 100 W-on kezelt minta TPC értéke 71,31 mg/l, míg a 10 percig 800 W-on kezelt mintáé 106,55 mg/l. Ebből megállapítható, hogy alacsony oldószer koncentráció mellett, az idő és a teljesítmény változtatása minimálisan befolyásolja polifenol kihozatalát, ami abból is látszik, hogy a válaszfelület egy elég sík felületet eredményezett.

12. ábra: A teljesítmény és az idő hatása a kinyerhető polifenol-tartalomra a legalacsonyabb oldószer koncentráció (10 V/V%) mellett

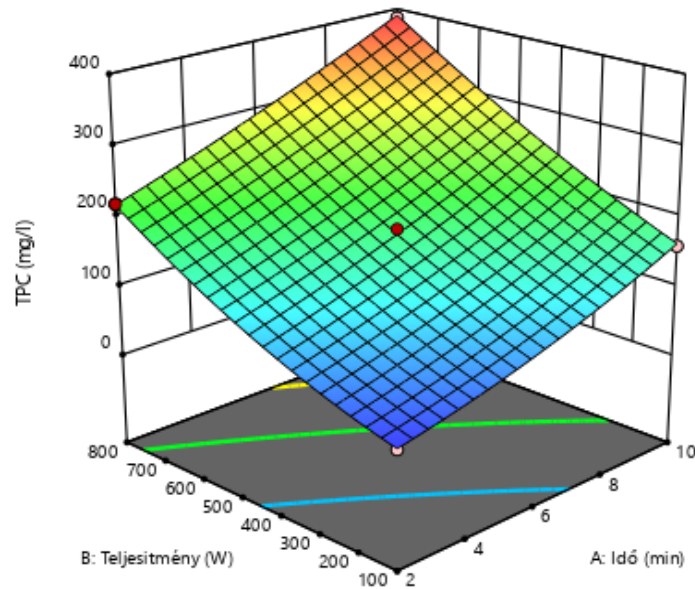
(Forrás: saját munka)



A 13. ábrán látható 3D modell a teljesítmény és idő hatását jeleníti meg 90 V/V%-os oldószer koncentráció mellett. Az ábrán jól látszik, hogy az idő és a hőmérséklet növelése is pozitívan hatott a polifenol kihozatalra. Könnyen észrevehető, hogy 90 V/V%-os töménységű oldószert használva, a 2 percig 100 W-on kezelt minta kihozatala jóval alacsonyabb (31,66 mg/l), mint az ugyanilyen koncentrációjú oldószerral 10 percig 800 W-on kezelt mintáé (386,56 mg/l). Így hát megállapítható, hogy a teljesítmény és az idő együttes növelésének hatására megnő a rozmaringból kioldható polifenolok mennyisége.

13. ábra: A teljesítmény és az idő hatása a kinyerhető polifenol-tartalomra a legnagyobb oldószer koncentráció (90 V/V%) mellett

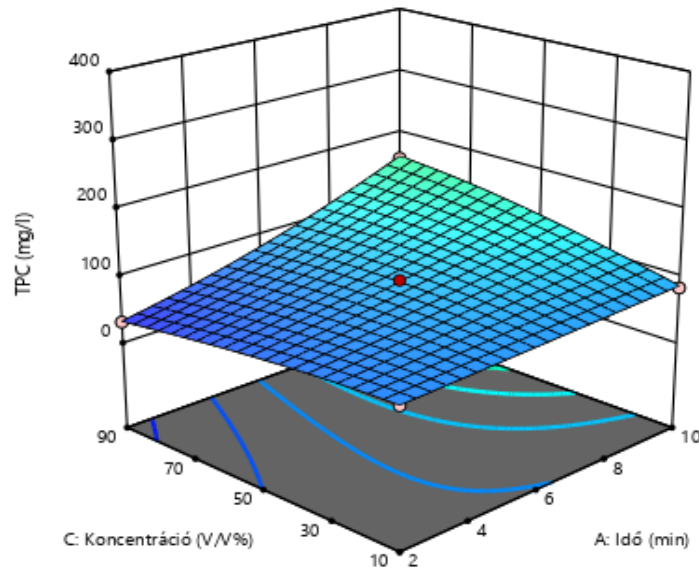
(Forrás: saját munka)



A koncentráció és idő hatása a legkisebb teljesítményen a 14. ábrán látható. A modellen 3 pontot vizsgáltam meg részletesebben. Az első pontnál 100 W-on 2 percig 10 V/V%-os oldószer koncentráció mellett 71,310 mg/l volt a TPC érték, míg annál a mérésnél, ahol ugyanígy 100 W-on 10 percig 90 V/V%-os oldószer koncentráció mellett kezeltük a mintát, több mint a kétszerese lett az előbbieken említett mérésnek (159,14 mg/l). A következtetésem az, hogy alacsony teljesítményen az idő és a koncentráció növelésének hatására a TPC értékek is növekedni fognak.

14. ábra: Koncentráció és idő hatása a kinyerhető polifenol-tartalomra a legkisebb teljesítményen (100 W)

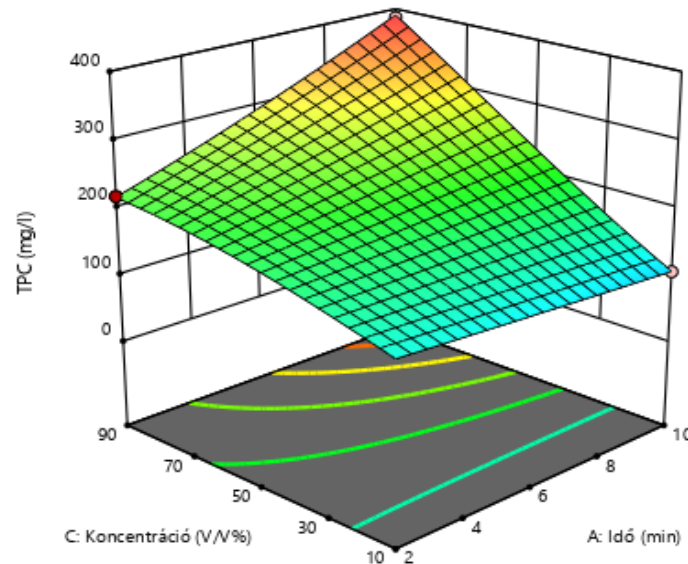
(Forrás: saját munka)



Ugyanennek az összefüggésnek a vizsgálata a legnagyobb teljesítményt alkalmazva (800 W), látható a 15. ábrán. Jól megfigyelhető, hogy már a 2 perces 90 V/V%-os oldószer koncentráció mellett végzett mérés eredménye is egy jó értéknek minősül a modell alapján (219,16 mg/l). Csupán 10 V/V%-os oldószer koncentráció mellett, 10 percig kezelve a mintát képesek vagyunk 106,55 mg/l TPC értéket elérni. Maximális teljesítményen és a legtöményebb oldószerrel (90 V/V%) alkalmazva, 10 perc kezelési idő után a TPC érték 386,56 mg/l. Ebből arra lehet következtetni, hogy minél nagyobb teljesítményen kezeljük a mintát, annál nagyobb lesz a várható kihozatal, adott koncentráció és idő mellett. Összességében mind a 3 faktor együttes hatása szerepet játszik a polifenol-tartalom kinyerésének növelésében.

15. ábra: A koncentráció és az idő hatása a kinyerhető polifenol-tartalomra a legnagyobb teljesítményen (800 W)

(Forrás: saját munka)



Az extrakcióim során kapott legmagasabb TPC értéket 90 V/V%-os oldószer koncentráció mellett, 800 W-on 10 perces kezelési idő alkalmazásával kaptam. Ez az érték 386,56 mg/l volt. A legalacsonyabb érték pedig 10 V/V%-os koncentráció mellett, 100 W-on 2 perces kezelési idő során 31,663 mg/l volt.

Szakirodalomból gyűjtött eredmények alapján az értékeim relevánsnak mondhatóak, ugyanis az értékek reális tartományban helyezkednek el. Teshale és munkatársai (2022), az Etiópiából származó rozmarying TPC értékét 288,8 mg GAE/g-nak határozták meg. Moczowska és munkatársai (2020) 32,42 ± 0,664 mg galluszsav egyenérték/g szárazanyagra állapították meg az általuk használt Marokkóból származó rozmarying TPC értékét. Majd 2021-ben Kheiria és munkatársai a Salemben gyűjtött rozmarying TPC értékét 87,8 ± 15,0 mg GAE/g-nak mérték. Az összehasonlítás érdekében az általam mért adatokat átváltva a legmagasabb TPC érték 6,44 mg GAE/g szárazanyag, és a legkisebb érték pedig 0,53 mg GAE/g szárazanyag volt.

Ebből adódóan a méréseimet jónak tekintem, és azt a következtetést tudom levonni az irodalmi adatokat felhasználva, hogy a rozmarying polifenol-tartalmát nagyban befolyásolja a származási helye, illetve az éghajlati viszonyok.

5.3 Antioxidáns kapacitás elemzése

A mérési adataimra itt is szintén egy négyzetgyökös transzformációt helyeztem, majd a Fit summary azaz illeszkedési összefoglaló táblázat alapján kezdtem el a kiértékelést, amit a 7. táblázatban mutatok be. A táblázatban vastagon szedett négyzetes (quadratic) modell tűnt a legmegfelelőbbnek a program szerint, így ezzel dolgoztam. A Lack of Fit p-értéke, itt is nagyobb 0,1-nél, ami azt jelenti, hogy a kvadratikus modell megfelelően illeszkedik, az illeszkedés hiánya nem szignifikáns. A korrigált és korrigálatlan R^2 értékek különbsége itt is kisebb 0,2-nél, így a modell ebből a szempontból is szintén megfelelő.

7. táblázat: Fit summary táblázat antioxidáns kapacitás értékekre

(Forrás: saját munka)

Source	Sequential p-value	Lack of Fit p-value	Adjusted R^2	Predicted R^2	
Linear	0,0001	0,0025	0,8982	0,8068	
2FI	< 0,0001	0,0711	0,9774	0,8965	
Quadratic	0,0314	0,2054	0,9874	0,9317	Suggested
Cubic	0,0980	0,8049	0,9933	0,9625	Aliased

A FRAP módszerrel mért TAC (Total Antioxidant Capacity) értékek további kiértékeléséhez szintén a csökkentett kvadratikus modellel készült ANOVA táblát alkalmaztam, aminek adatai a 8. táblázatban találhatóak. A 9 tagból álló modelletem szintén csökkentettem a modellt még jobb illeszkedésének érdekében, így a 0,05 feletti p-értékkel rendelkező adatokat kivettem. Végül egy 6 tagból álló modellt elemeztem tovább, amelyben a tagok p-értékei jóval 0,05 alatt helyezkedtek el, így a főhatások mellett az *idő*teljesítmény* és *idő*koncentráció* szorzata (kereszthatása), valamint a négyzetes tagok közül a *koncentráció²* biztosan hatással voltak az antioxidáns kapacitás értékeire, melyek szignifikánsak mondhatók a modell szempontjából. A 8. táblázat alapján a Model F-értéke 294,70 ebből adódóan 0,01% esély van arra, hogy az F-érték zajból vagy mérési hibából adódna. A Model p-értéke is jóval a meghatározott 0,05-os szignifikancia szint alatt van, így szignifikánsnak mondható a modell.

8. táblázat: Csökkentett kvadratikus modellre vonatkozó ANOVA tábla TAC mérésénél

(Forrás: saját munka)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	108,72	6	18,12	294,70	< 0,0001	significant
Idő	14,09	1	14,09	229,17	< 0,0001	
Teljesítmény	45,97	1	45,97	747,72	< 0,0001	
Koncentráció	40,07	1	40,07	651,72	< 0,0001	
Idő*Teljesítmény	0,4220	1	0,4220	6,86	0,0212	
Idő*Koncentráció	7,27	1	7,27	118,17	0,0001	
Koncentráció²	0,8990	1	0,8990	14,62	0,0021	
Residuals	0,7993	13	0,0615			
Lack of Fit	0,5709	8	0,0714	1,56	0,3234	not significant
Pure Error	0,2284	5	0,0457			
Cor Total	109,52	19				

Az összefüggés a független változók és az antioxidáns kapacitás négyzetgyöke között a következőképp alakul:

$$\sqrt{FRAP} = +3,0796 + 0,0728 \cdot t + 0,0071 \cdot P + 0,0408 \cdot c - 0,0002 \cdot t \cdot P + 0,006 \cdot t \cdot c - 0,0003 \cdot c^2 \quad (4)$$

ahol:

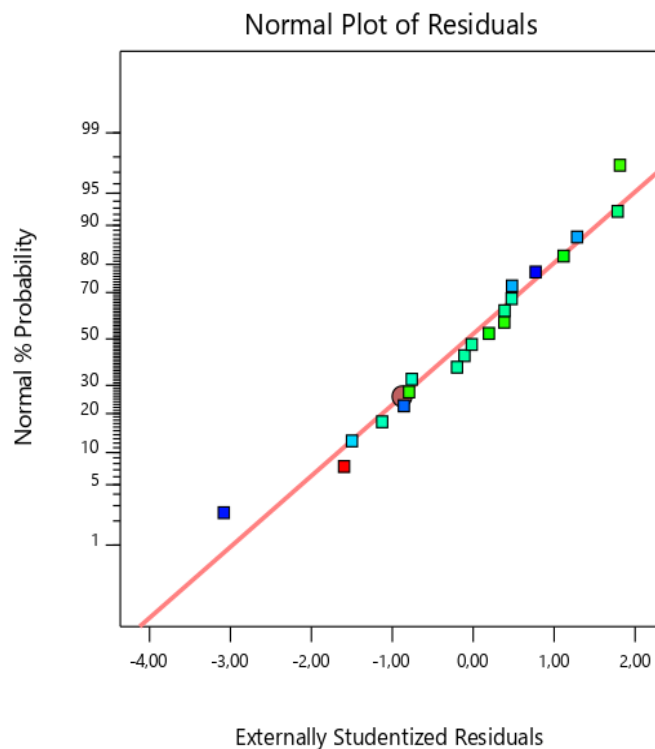
t	idő	[perc]
c	koncentráció	[V/V%]
P	teljesítmény	[W]

Ezzel az egyenlettel kiszámolható a minta várható antioxidáns kapacitása, ha behelyettesítjük az általunk beállított paramétereket az egyenletbe, azonban a képlet szintén csak akkor működik, ha az általunk használt faktor értékek a TPC tartalomnál is említett tartományon belül helyezkednek el, illetve az eredeti mértékegységben vannak megadva (perc, W, V/V%).

A modellem megfelelőségét itt is a *Normal plot of residuals* diagrammal ellenőriztem, ami a 16. ábrán látható. A mérési adatok szintén a 45°-os egyenes mentén helyezkednek el, és nagy mértékben kiugró pont az egyenes mentén itt sem észlelhető. A reziduumok eloszlása is szintén normálisnak tekinthető.

16. ábra: TAC értékekre vonatkozó Normal plot of residuals diagram

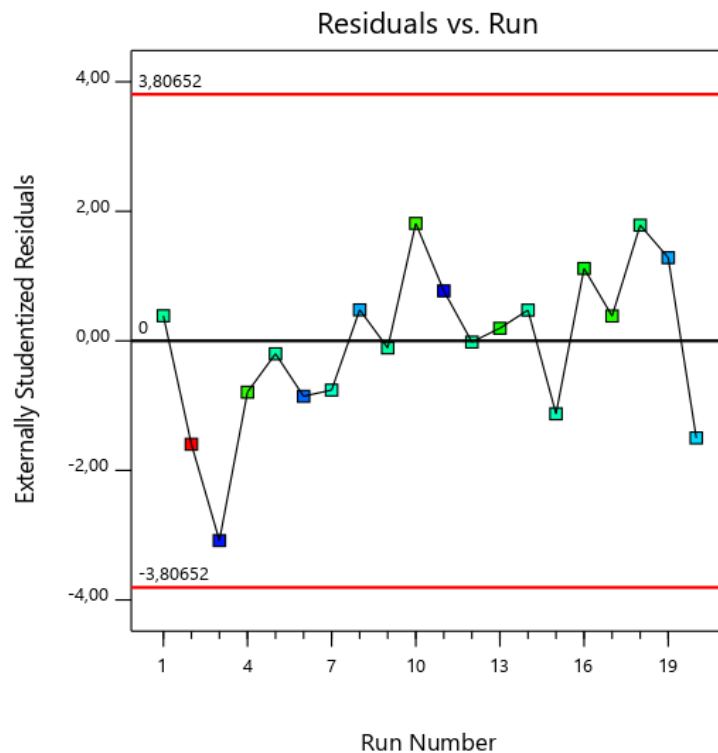
(Forrás: saját munka)



A 17. ábrán megfigyelhető a mérések egymástól való függetlensége. Az ábra alapján a piros vonalon túlnyúló kiugró érték nem látható, és az értékek nagyjából egy vonal mentén helyezkednek el, tehát a modell megfelelőnek mondható.

17. ábra: Az antioxidáns kapacitás értékeinek egymástól való függetlensége

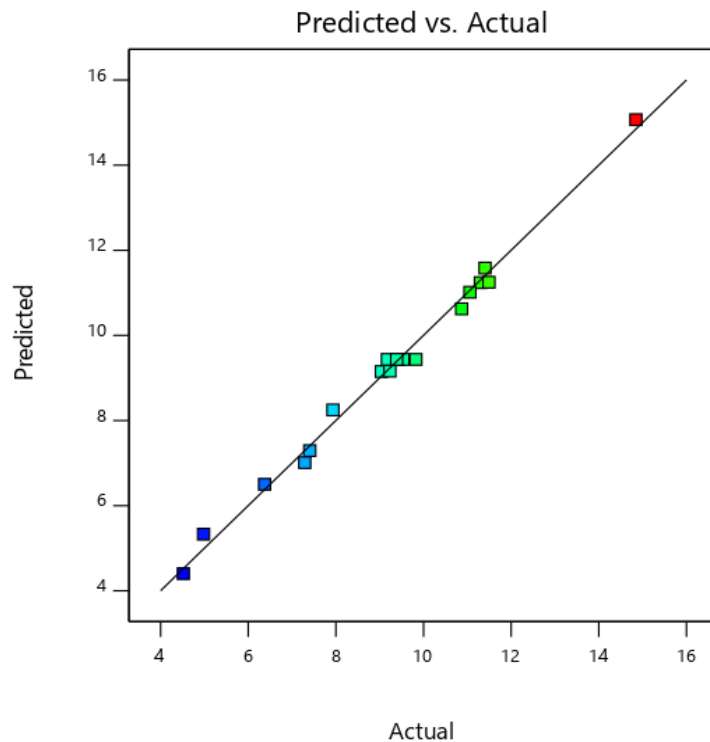
(Forrás: saját munka)



A tényleges és előrejelzett FRAP módszer alapján mért értékeket a 18. ábrán láthatjuk. A mérések pontosságát a fekete vonalon való elhelyezkedésük mutatja. Minél jobban illeszkedik az érték az egyenesre annál jobbnak számítanak a mérési eredmények. Az én esetemben a pontok nagy része az egyenes közvetlen közelében helyezkedik el, és páran közülük teljesen illeszkednek a vonalra. Ebből a szempontból is ismét megfelelőnek bizonyult a modell.

18. ábra: Előrejelzett és tényleges antioxidáns kapacitás értékek

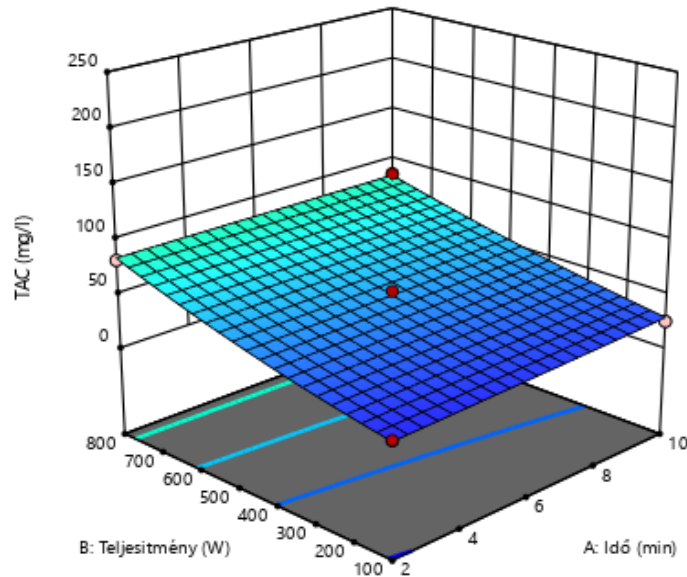
(Forrás: saját munka)



A 19. ábrán egy 3D modell látható, ami az idő és a teljesítmény hatását mutatja be, 10 V/V%-os (minimális) oldószer koncentráció mellett. A 2 percig 100 W-on kezelt minta FRAP módszer alapján mért antioxidáns kapacitás értéke 20,42 mg/l, míg a 10 percig 800 W-on kezelt mintáé 85,23 mg/l. Az időt és teljesítményt középponti értékre (6 perc, 450 W) állítva, minimális oldószer koncentráció mellett 53,13 mg/l antioxidáns kapacitás értéket lehetett elérni. Ebből azt a következtetést lehet levonni, hogy alacsony oldószer koncentráció mellett, az idő és a teljesítmény együttes változtatása kis mértékben befolyásolja az antioxidáns kapacitás értékét, viszont nem mondható rá, hogy semmilyen mértékben nem befolyásolja.

19. ábra: A teljesítmény és az idő hatása a legkisebb oldószer koncentráció (10 V/V%) mellett az antioxidáns kapacitás mérésénél

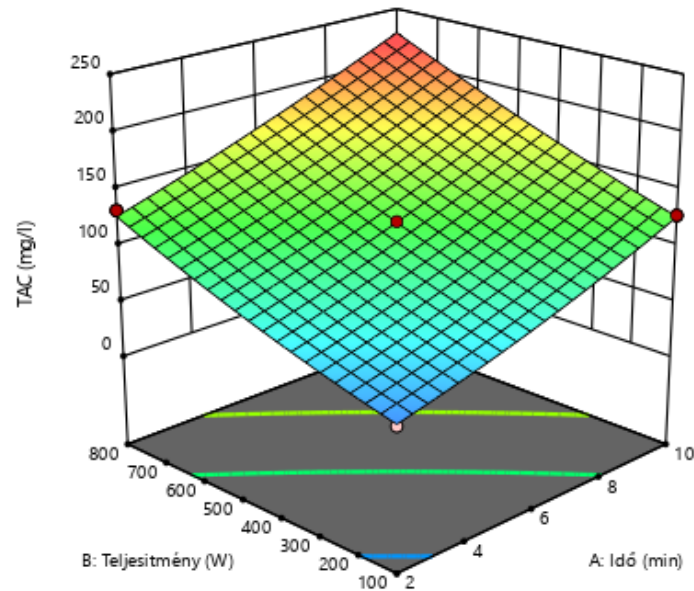
(Forrás: saját munka)



A 20. ábrán látható modell ugyanígy a teljesítmény és idő hatását jeleníti meg, viszont itt 90 V/V%-os oldószer koncentráció mellett. Az ábráról észrevehető, hogy az idő és a hőmérséklet növelése is megnövelte a minta antioxidáns kapacitásának értékét. A 90 V/V%-os töménységű oldószerrel használva, a 2 percig 100 W-on kezelt minta antioxidáns kapacitás értéke 40,63 mg/l, ami kétszerese az előbbieken említett minimális oldószer koncentráció mellett ugyanígy 2 percig 100 W-on kezelt mintának. Az ugyanígy 90 V/V%-os koncentrációjú oldószerrel 10 percig 800 W-on kezelt minta FRAP módszerrel mért antioxidáns kapacitás értéke 220,47 mg/l volt. Az időt és teljesítményt középponti értékre (6 perc, 450 W) állítva, maximális oldószer koncentráció mellett 122,32 mg/l antioxidáns kapacitás értéket lehetett elérni. Ezekből az adatokból megállapítható, hogy a teljesítmény és az idő együttes növelésének hatására magasabb oldószer koncentráció mellett jelentősen megnő a rozmaryingból kioldható antioxidánsok mennyisége.

20. ábra: A teljesítmény és az idő hatása maximális oldószer koncentráció (90 V/V%) mellett az antioxidáns kapacitás mérésénél

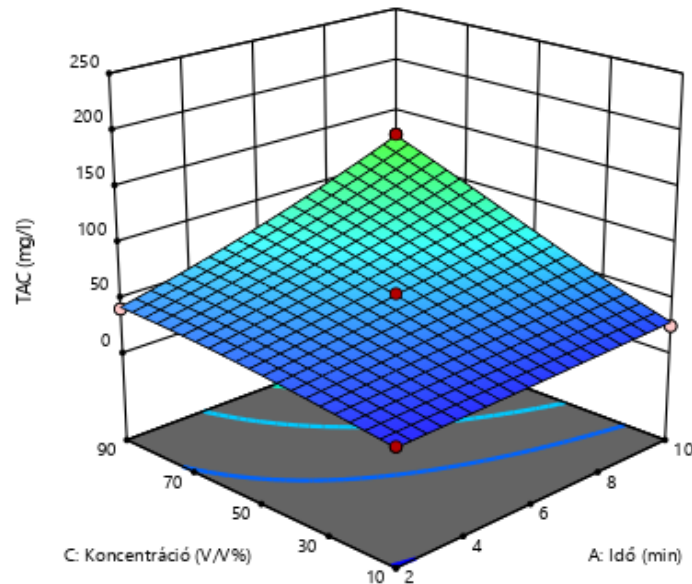
(Forrás: saját munka)



A 21. ábrán látható az idő és a koncentráció hatása minimális teljesítményen (100 W). Az ábrán észrevehető, hogy az idő és a koncentráció növelése is magasabb antioxidáns kapacitást eredményez. A 10 V/V%-os töménységű oldószert használva, 2 percig 100 W-on kezelt minta antioxidáns kapacitás értéke 20,42 mg/l, míg az ugyanilyen teljesítményen és középponti értékeken (6 perc, 50 V/V%) mért minta antioxidáns kapacitása 54,80 mg/l tehát több mint a kétszerese az előző mintának. Ez jól mutatja, hogy az idő és a koncentráció együttes növelésének hatására, a rozmaryngban lévő antioxidáns vegyületek nagyobb mértékben oldódnak ki. Az ugyanígy 100 W-on 90 V/V%-os koncentrációjú oldószerral 10 percig kezelt minta FRAP módszerrel mért antioxidáns kapacitás értéke 127,67 mg/l volt. Ez az érték megint több, mint a kétszerese az előbbieken említett mérésnek. Ezekből az adatokból megállapítható, hogy az idő és a koncentráció együttes növelésének hatására minimális teljesítmény mellett is számottevően megnő a rozmaryngból kioldható antioxidánsok mennyisége.

21. ábra: Az idő és a koncentráció hatása minimális teljesítményen (100 W) az antioxidáns kapacitás mérésénél

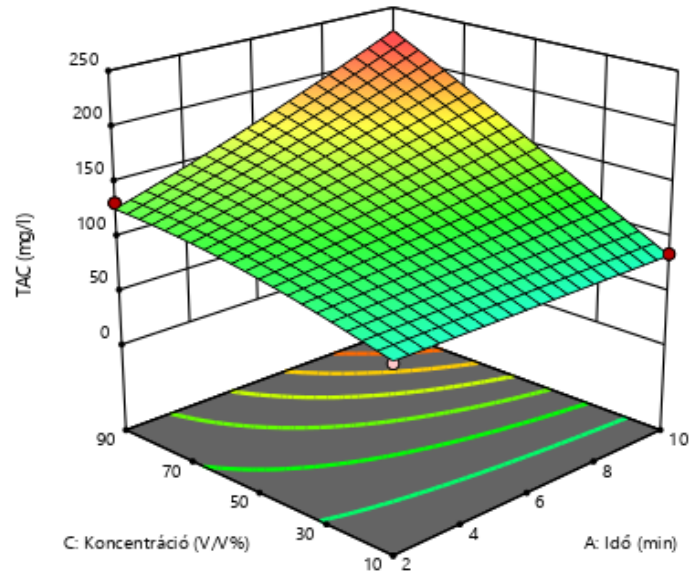
(Forrás: saját munka)



Ugyanezen paraméterek hatásának vizsgálata látható a 22. ábrán maximális teljesítményt beállítva (800 W). Az ábrán szintén megfigyelhető, hogy az idő és a koncentráció növelésének hatására az antioxidáns kapacitás értékei magasabbak. A 10 V/V%-os töménységű oldószert használva, 2 percig kezelt minta antioxidáns kapacitás értéke 81,69 mg/l, míg az ugyanilyen teljesítményen és középponti értékeken (6 perc, 50 V/V%) mért minta antioxidáns kapacitása 130,04 mg/l. Az ugyanígy 800 W-on maximális (90 V/V%) oldószert koncentráció mellett, 10 percig kezelt minta FRAP módszerrel mért antioxidáns kapacitás értéke 220,48 mg/l volt. Ez jól mutatja, hogy az idő és a koncentráció együttes növelésének hatására, maximális teljesítmény mellett a rozmarynban lévő antioxidáns vegyületek nagyobb mértékben oldódnak ki, mint alacsonyabb teljesítmény mellett.

22. ábra: Az idő és a koncentráció hatása maximális teljesítményen (800 W) az antioxidáns kapacitás mérésénél

(Forrás: saját munka)



A kivonatolásom során kapott legmagasabb FRAP módszerrel mért antioxidáns kapacitás értéket 90 V/V%-os oldószer koncentráció mellett, 800 W-on, 10 perces kezelési időt alkalmazva kaptam. Ez az érték 220,48 mg/l volt. A legkisebb érték pedig 10 V/V%-os koncentráció mellett, 100 W-on, 2 perces kezelési időt alkalmazva 20,42 mg/l volt.

Az általam olvasott szakirodalmi adatok alapján az itt kapott értékeimet szintén relevánsnak mondanám, ugyanis az értékek reális tartományban helyezkednek el. Hozzá kell tennem, hogy az én méréseimnél alkalmazott paraméterekkel, és használt oldószerrel (izopropanol) kapcsolatban nem állt rendelkezésemre irodalmi adat, így csak a más oldószer alkalmazása és más extrakciós művelet elvégzése mellett létrejött adatokat tudtam alapul venni.

Ebből adódóan a saját méréseimet jónak tekintem, és szintén azt a következtetést tudom levonni az irodalmi adatokat figyelembe véve, hogy a rozmaring antioxidáns tartalmát is nagy mértékben befolyásolja a földrajzi elhelyezkedése, illetve az éghajlati viszonyok.

5.4 Faktorok hatásainak összesítése a mért analitikai változókra

A program segítségével összesítettem a 9. táblázatban látható koefficienseket, amelyek a faktorok hatásait vizsgálják az általam mért két függő változóra a TPC (Total Phenolic Content) és a TAC (Total Antioxidant Capacity) értékekre. A táblázatban szereplő p-értékek azt jelzik, hogy az adott független változók milyen mértékben voltak hatással az általam mért függő változókra. Azok a p-értékek, amelyek 0,05 érték alatt vannak, szignifikánsnak tekinthetők, tehát hatással voltak a függő változókra. Minél kisebb ez az érték annál nagyobb mértékben hatott a független változó a TPC, és a TAC értékekre.

A táblázatban jól látszik, hogy az időhöz a teljesítményhez és a koncentrációhoz tartozó p-értékek mindhárom esetben jelentősen befolyásolták a függő változókat, mivel értékük minden esetben $<0,0001$, tehát szignifikáns hatással bírnak a mért értékekre. Az idő*teljesítmény kereszthatás a TPC tartalomra szignifikánsabban hatott, mivel a p-érték itt is $<0,0001$. A TAC értéket a TPC értéknél kevésbé befolyásolta ugyanez a kereszthatás, ennek p-értéke 0,0212, ami még mindig a szignifikáns tartományba tartozik. Az idő*koncentráció kereszthatás jól láthatóan mindkét esetben erőteljesen szignifikánsan hatott a függő változókra, mindkét esetben a p-érték $<0,0001$. A teljesítmény*koncentráció kereszthatása a TPC értékre volt jelentősen szignifikáns, a TAC értéknél ez a kereszthatás ki lett véve a modell jobb illeszkedésének érdekében. A koncentráció² p-értéke mindkét függő változónál jóval 0,05 alatt helyezkedik el, így ez a tényező is szignifikánsan hatott. Összességében elmondható, hogy a független változók mindegyike nagymértékben befolyásolta a függő változók értékeit.

9. táblázat: TPC és TAC értékek mérésére vonatkozó koefficiens táblázat

(Forrás: saját munka)

	TPC	p-érték	TAC	p-érték
Inter.	12,14		9,44	
Idő	1,46	$<0,0001$	1,19	$<0,0001$
Telj.	2,50	$<0,0001$	2,14	$<0,0001$
Konc.	1,67	$<0,0001$	2,00	$<0,0001$
Idő*Telj.	-0,502	$<0,0001$	-0,23	0,0212
Idő*Konc.	1,54	$<0,0001$	0,955	$<0,0001$
Telj*Konc.	1,502	$<0,0001$		
Konc.²	-0,55	0,0006	-0,42	0,0021

5.5 Korreláció elemzése a vizsgált paraméterek között

A statisztikai elemzések során korrelációval mérjük két tetszőleges érték közötti lineáris kapcsolat erősségét és irányát. Esetemben a korrelációt a TAC és a TPC függő változókra nézve elemeztem. A korreláció értéke -1 és +1 között helyezkedik el. A +1 -es érték azt jelenti, hogy a vizsgált paraméterek között tökéletes pozitív korreláció áll fenn, míg a -1-es érték tökéletes negatív korrelációt jelent. A 0 értékű eredmény azt jelzi, hogy a vizsgált paraméterek függetlenek és nem korrelálnak egymással, ezért az eredmények véletlenszerűek egymáshoz képest. A 10. táblázatban látható a mérések korrelációs mátrixa, amiből megállapítható, hogy a polifenol-tartalom (TPC), és az antioxidáns kapacitás (TAC) között szoros összefüggés áll fenn, mivel $r=0,945$ és ez a jelenség a 23. ábrán is megfigyelhető.

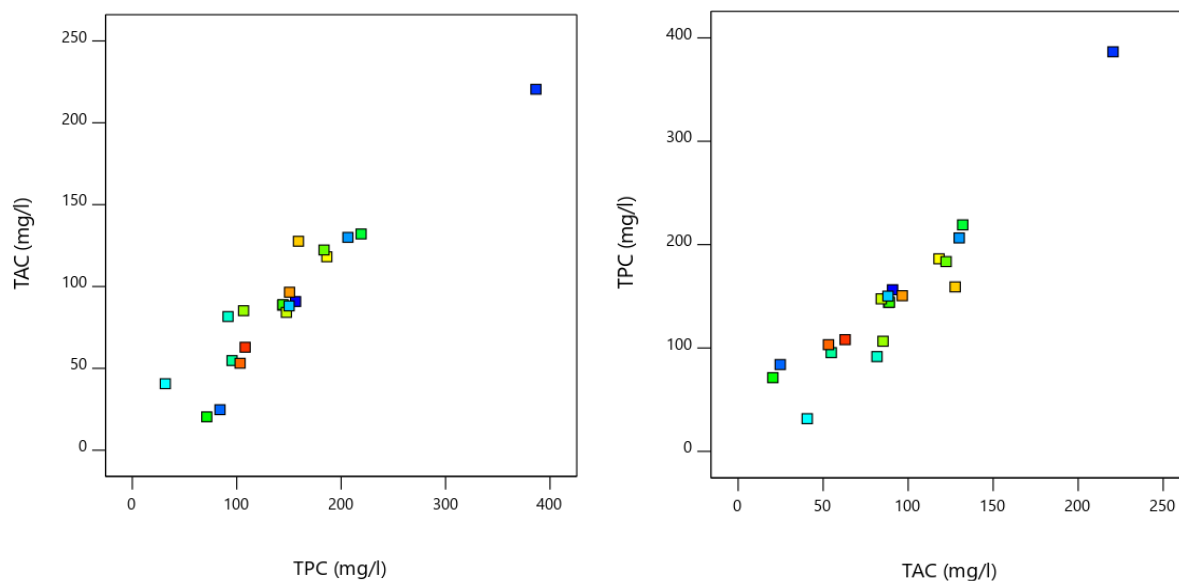
10. táblázat: TPC és TAC értékek korrelációs mátrixa

(Forrás: saját munka)

	TPC	TAC
TPC	1	0,945
TAC	0,945	1

23. ábra: A mért TAC és TPC értékek közti korreláció ábrázolása

(Forrás: saját munka)



5.6 Numerikus optimalizálás

A DE szoftver beépített numerikus optimalizálás funkciójával meg tudtam állapítani, hogy milyen paraméterek mellett lehet a legjobb értékeket elérni az extrahálás során. Ehhez kiválasztottam, hogy a TPC és TAC értékek legyenek maximalizálva a független változók pedig maradjanak tartományon belül az optimalizálás során. A maximalizálni kívánt értékekhez be lehetett állítani egy súlyt, amivel a méréshez tartozó grafikon alakját tudtam változtatni. Az eredmények a 11. táblázatban láthatóak. Az optimalizálás 115 pontból indult, és ez folyamatosan csökkent a maximumhoz közeledve, végül 49 megoldást kínált az optimalizáció, ami alapján a maximumokat a kapott elrendezési eredmény 1,000 rátában teljesíti. Az optimalizálás során a maximális értékek elérésének érdekében a 11. táblázatban lévő paraméterekkel érdemes végezni az extrakciót.

11. táblázat: TPC és TAC értékek maximalizálása

(Forrás: saját munka)

Idő	Teljesítmény	Koncentráció	TPC	TAC	Desirability	
10,000	800,000	90,000	390,34	227,16	1,00	Selected

A táblázatban szereplő eredményeket elemezve megállapítható, hogy a legnagyobb TPC és TAC értékeket maximális idő, teljesítmény és koncentráció alkalmazásával lehetett elérni. Ez az eredmény egyáltalán nem meglepő a számomra, mivel már az extrakciós kísérletek során nagy színbeli különbséget lehetett felfedezni a maximális és minimális paraméterek alkalmazásával készült extraktumok között, így már akkor is sejtettem, hogy a színesebb extraktumoknak nagyobb lesz a polifenol-tartalma és az antioxidáns kapacitása is egyaránt. A táblázat alapján a maximalizált beállításokat alkalmazva a TPC érték 390,34 mg/l a TAC érték pedig 227,16 mg/l lenne.

6. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A kísérlettel kapcsolatban egyértelműen meg tudom állapítani, hogy mindhárom független változó (idő, teljesítmény, koncentráció) hatással volt a függő változók értékeire, mivel minden jel erre utalt a modellen. A TPC és TAC értékek közti korreláció is nagymértékű volt, így megállapíthatom, hogy a nagy antioxidáns kapacitás együtt jár a magas polifenol-tartalommal.

Javasolnám, hogy a méréseket hosszabb ideig, illetve nagyobb teljesítményen és magasabb koncentráció mellett kutassák tovább, ugyanis a méréseim során azt tapasztaltam, hogy ezen paraméterek maximalizálása mellett volt a legnagyobb a függő változók értéke.

Következtetésem közé tartozik még az a tény, hogy a rozmarin antioxidáns kapacitását és a polifenol-tartalmát egyértelműen és nagy mértékben befolyásolja, annak földrajzi elhelyezkedése. A szakirodalomban olvasottak alapján a rozmarin TPC és TAC értékei magasabbnak mutatkoznak olyan helyeken, ahol, a tél és a tavasz nem túl hideg, és a nyár nagyon meleg.

Az előkísérletek alapján megállapítottam, hogy az izopropanol hatékonyabb extraháló szer volt az etanollal szemben. Mivel nem áll rendelkezésre irodalmi adat izopropanollal végzett extrakcióval, eredményeim újnak számítanak. Érdemes lenne a következő évben is megismételni a méréseket, és megvizsgálni az évjáratok közötti különbségeket.

A rozmarin további vizsgálatát egyértelműen érdemesnek tartom, akár ugyanezen paraméterek alkalmazásával szélesebb tartományban, ügyelve a hőre bomló vegyületek kritikus pontjaira. Érdemes lenne tovább próbálkozni a vízzel is extraháló oldószerként, mivel környezetbarátabb az alkoholokhoz viszonyítva. Illetve érdemesnek tartom az oldószer-visszanyerés lehetőségeinek vizsgálatát is.

Így a kapott extraktumok felhasználhatóak a funkcionális élelmiszerek előállításához, vagy étrend-kiegészítő kapszulák összetevőjeként, a hozzá kapcsolódó egészségügyi előnyökkel együtt. Ez pedig egy jó kezdeményezés lenne azok felé, akik előszeretettel fogyasztanak gyógynövényeket, viszont azokat teaként vagy fűszerként nem szívesen teszik, ugyanakkor szeretnének élni a rozmarin által nyújtott egészségügyi előnyökkel.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

Az egészséges életmódot követő emberek száma napjainkban nagymértékben megnövekedett. Ez köszönhető a médiának és az egyre többféle betegségben szenvedő emberek életmódváltásának is. Ősi idők óta használják a gyógynövényeket gyógyító hatásuk miatt mindenféle panaszra, mégis a mai napig kevesen tudják egyes példányok kedvező élettani hatását. Éppen azért szerettem volna a fűszernövénynek csúfolt rozmaring, tudományos nevén *Salvia rosmarinus* bioaktív komponenseit vizsgálni, és bebizonyítani azt, hogy sokkal inkább megérdemli a gyógynövény elnevezést, a temérdek mennyiségű pozitív tulajdonsága miatt.

Így hát ahhoz, hogy véleményemet alátámasszam, mikrohullámú extrakciót végeztem, egy Magyarországon termelt rozmaringot használva, hogy a továbbiakban meg tudjam határozni az extraktumok teljes polifenol-tartalmát és az antioxidáns kapacitását. A mérés elkezde előtt előkísérleteket végeztem, hogy ki tudjam választani melyik oldószert használjam a továbbiakban. A legjobb értékeket az izopropanollal végzett extrakció során mértem, így a kísérletet ezzel folytattam. Az oldószert kiválasztása után összeállítottam egy kísérlettervet, aminek három független és két függő változója volt. A független változók voltak az idő (2, 6, 10 perc), az oldószert koncentráció (10, 50, 90 V/V%) és a teljesítmény (100, 450, 800 W). A függő változók pedig a TPC és TAC értékek voltak.

A polifenol-tartalom mérését Singleton és Rossi (1965) által leírt módszer alkalmazásával határoztam meg, a mérés során kapott legnagyobb érték 386,56 mg/l volt galluszsavra vonatkoztatva. Ekkor a mérés paraméterei 800 W, 10 perc és 90 V/V% voltak. A mérés kiértékelése során azt a következtetést tudtam levonni, hogy a TPC értékeket mind a három független változó szignifikánsan befolyásolja, és együttes növelésük hatására a rozmaringban lévő polifenolok kioldhatósága is növekszik.

A FRAP módszerrel (Benzie és Strain, 1966), mért vasredukáló képességen alapuló antioxidáns kapacitás mérés során a legmagasabb TAC értéket szintén a maximális paraméterek (800 W, 10 perc, 90 V/V%) alkalmazása mellett kaptam, ami 220,48 mg/l volt aszkorbinsavra vonatkoztatva. A mérés kiértékelése során szintén azt tudtam megállapítani, hogy az antioxidáns kapacitásra mind a három választott faktor szignifikánsan hatott, és együttes növelésük során jelentős TAC érték növekedés várható.

A mérések során kapott eredményeimet összehasonlítva a szakirodalmi eredményekkel, megállapítottam, hogy az adataim relevánsak, ezért ezeket elfogadhatónak tekintem. A magasabb, illetve alacsonyabb TPC és TAC értékek magyarázhatóak azzal, hogy az általam használt izopropanol oldószerttel történő kivonatolásról szinte alig pár adatot lehet találni a

szakirodalomban, ezek pedig általában nem azonos extrakciós módszerrel készültek, illetve a növények földrajzi elhelyezkedése sem azonos.

A kiértékelésem végén ellenőriztem a mérések közti korrelációt is, aminek eredménye $r=0,945$, ami igen magasnak mondható, így tehát a függő változók nagy mértékben korrelálnak egymással. A numerikus optimalizálás is azt eredményezte, hogy maximális oldószer koncentráció (90 V/V%), maximális idő (10 perc), és maximális teljesítmény (800 W) alkalmazása mellett érhető el a legnagyobb polifenol-tartalom és antioxidáns kapacitás.

Összességében a kísérlet eredményei bebizonyították, hogy a rozsmaring egy értékes gyógynövény, amiben nagy mértékben előfordulnak fenolos vegyületek, és kimagasló antioxidáns tartalommal is rendelkezik ez mellett.

Battyányi Dorka Szakdolgozat

IRODALMI HIVATKOZÁSOK

1. Alfieri, A., & Mann, G. E. (2015): Bioactive Nutraceuticals and Stroke: Activation of Endogenous Antioxidant Pathways and Molecular Mechanisms Underlying Neurovascular Protection. *Bioactive Nutraceuticals and Dietary Supplements in Neurological and Brain Disease: Prevention and Therapy*, Chapter 37. 365–379.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411462-3.00037-0>
2. Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B., Berker, K. I., & Özyurt, D. (2007): Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the cuprac assay. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 12(7), 1496–1547.
<https://doi.org/10.3390/12071496>
3. Arauz, J., Ramos-Tovar, E., & Muriel, P. (2017): Coffee and the Liver. *Liver Pathophysiology: Therapies and Antioxidants*, Chapter 48. 675–685.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804274-8.00048-5>
4. Balogh, E. (2010): Antioxidáns kapacitás meghatározása és ennek kialakításában szerepet játszó vegyületek vizsgálata bogyós gyümölcsök esetében, PhD disszertáció, Budapesti Corvinus Egyetem Alkalmazott Kémia Tanszék, 20-105.
http://phd.lib.uni-corvinus.hu/537/1/balogh_emoke.pdf
5. Bellumori, M., Innocenti, M., Binello, A., Boffa, L., Mulinacci, N., & Cravotto, G. (2016): Selective recovery of rosmarinic and carnosic acids from rosemary leaves under ultrasound- and microwave-assisted extraction procedures. *Comptes Rendus Chimie*, 19(6), 699–706.
<https://doi.org/10.1016/J.CRCI.2015.12.013>
6. 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.
<https://doi.org/10.1006/ABIO.1996.0292>
7. Bharat Helkar, P., Sahoo, A., & Patil, N. (2016): Review: Food Industry By-Products used as a Functional Food Ingredients. *Int J Waste Resour*, 6, 3. 2-5.
<https://doi.org/10.4172/2252-5211.1000248>
8. Cai, Y., Zheng, Q., Sun, R., Wu, J., Li, X., & Liu, R. (2020): Recent progress in the study of *Artemisiae Scopariae Herba* (Yin Chen), a promising medicinal herb for liver diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 130, 9-12. 110513.
<https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2020.110513>

9. Choulitoudi, E., Ganiari, S., Tsironi, T., Ntzimani, A., Tsimogiannis, D., Taoukis, P., & Oreopoulou, V. (2017): Edible coating enriched with rosemary extracts to enhance oxidative and microbial stability of smoked eel fillets. *Food Packaging and Shelf Life*, 12, 107–113. <https://doi.org/10.1016/J.FPSL.2017.04.009>
10. Csapó, J., & Albert, Cs. (2018): *Funkcionális élelmiszerek*, Debreceni Egyetem Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar Élelmiszertechnológiai Intézet, Debrecen, Debreceni Egyetemi Kiadó, ISBN 9789633187074. 50-59. <https://csik.sapientia.ro/content/oktatasisegedanyag/CsapóJánosKönyveiSegédanyagai/KönyvekÉsJegyzetek/FunkcionálisÉlelmiszerekDebrecen2018.pdf>
11. Cséfalvay, E., Mika, L. T. (2008): *Vegyipari Művelettan jegyzet*, ELTE Kémiai Intézet, Budapest. 65-75. <https://dokumen.tips/documents/vegypari-muvelettan.html?page=5>
12. Dévay A. (2013): *A gyógyszer technológia alapjai*, Pécsi Tudomány Egyetem Gyógyszertechnológiai és Biofarmáciai Intézet, 91-102.
13. El Meniy, N., Aboulaghras, S., Bakrim, S., Moubachir, R., Taha, D., Khalid, A., Abdalla, A. N., Algarni, A. S., Hermansyah, A., Ming, L. C., Rusu, M. E., & Bouyahya, A. (2023): Genkwanin: An emerging natural compound with multifaceted pharmacological effects. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, Chapter 165, 115159, 2-3. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2023.115159>
14. Fábry Gy. (1995): *Élelmiszer-ipari eljárások és berendezések*, Budapest, Mezőgazda Kiadó, 501-526.
15. Gagliardini, E., Benigni, A., & Perico, N. (2017): Pharmacological Induction of Kidney Regeneration. *Kidney Transplantation, Bioengineering, and Regeneration: Kidney Transplantation in the Regenerative Medicine Era*, Chapter 74, 1028–1029. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801734-0.00074-6>
16. Garg, A., Sharma, R., Dey, P., Kundu, A., Kim, H. S., Bhakta, T., & Kumar, A. (2020): Analysis of triterpenes and triterpenoids. *Recent Advances in Natural Products Analysis*, Chapter 11, 393–395. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816455-6.00011-1>
17. Gökmen, V., Serpen, A., & Fogliano, V. (2009): Direct measurement of the total antioxidant capacity of foods: the ‘QUENCHER’ approach. *Trends in Food Science & Technology*, 20(6–7), 278–288. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2009.03.010>

18. Hegedűs, A. (2013): A csonthéjas gyümölcsök antioxidáns hatásában megnyilvánuló genetikai variabilitás jellemzése. Budapest Corvinus Egyetem Genetika és Növénynevelés Tanszék, 52–80.
19. Huang, D., Boxin, O. U., & Prior, R. L. (2005): The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841–1848.
<https://doi.org/10.1021/JF030723C>
20. Johanyák, C. Z. (2002): Bevezetés a kísérletmódszertanba, Kecskeméti Főiskola, 4-25.
21. Kheiria, H., Mounir, A., María, Q., José, J. M., Bouzid, S. (2021): Total Phenolic Content and Polyphenolic Profile of Tunisian Rosemary Residues. *Natural Drugs from Plants*, 1-7.
<https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.97762>
22. Kumar, V., Marković, T., Emerald, M., & Dey, A. (2016): Herbs: Composition and Dietary Importance. *Encyclopedia of Food and Health*, 332–337.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00376-7>
23. Lešnik, S., Furlan, V., & Bren, U. (2021): Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.): extraction techniques, analytical methods and health-promoting biological effects. In *Phytochemistry Reviews* (Vol. 20, Issue 6) Springer Science and Business Media B.V 1273–1328.
<https://doi.org/10.1007/s11101-021-09745-5>
24. Moczowska, M., Karp, S., Horbanczuk, O. K., Hanula, M., Wyrwicz, J., & Kurek, M. A. (2020): Effect of rosemary extract addition on oxidative stability and quality of hemp seed oil. *Food and Bioprocess Technology*, 124, 33–47.
<https://doi.org/10.1016/j.FBP.2020.08.002>
25. Musa Özcan, M., Dursun, N., Gezgin, S., Ceylan, D. A., Gökmen, F., Harmankaya, M., Uslu, N., & Özcan, M. M. (2019): Macro and micro element contents of some herb and condiments. 25(3), 143–146.
26. Nutrizio, M., Jurić, S., Kucljak, D., Švaljek, S. L., Vlahoviček-Kahlina, K., Režek Jambrak, A., & Vinceković, M. (2023): Encapsulation of Rosemary Extracts using High Voltage Electrical Discharge in Calcium Alginate/Zein/Hydroxypropyl Methylcellulose Microparticles. *Foods* 2023, Vol. 12, Page 1570, 12(8), 1-3.
<https://doi.org/10.3390/FOODS12081570>
27. Pfeiffer P. (2012): A kajszi és meggy gyümölcsök flavonoid-bioszintézisének jellemzése, Doktori értekezés, Budapesti Corvinus Egyetem Genetika és Növénynevelés Tanszék, 11–64.
28. Rahbardar, M. G., & Hosseinzadeh, H. (2020): Therapeutic effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and its active constituents on nervous system disorders. *Iranian*

- Journal of Basic Medical Sciences, 23(9), 1100-1108.
<https://doi.org/10.22038/IJBMS.2020.45269.10541>
29. Rizvi, S. S. H. (2010): Separation, extraction and concentration processes in the food, beverage and nutraceutical industries. Woodhead Publishing.
30. Sakai, E., Farhana, F., Yamaguchi, Y., & Tsukuba, T. (2022): Potentials of natural antioxidants from plants as antiosteoporotic agents. *Studies in Natural Products Chemistry*, 72, 1–28.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823944-5.00002-8>
31. Santos-Sánchez, N. F., Salas-Coronado, R., Villanueva-Cañongo, C., Hernández-Carlos, B., (2019): Antioxidant Compounds and Their Antioxidant Mechanism. *Antioxidants*, 1-3.
<https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.85270>
32. Sattler, K., Feindt, H. J. (1995): *Thermal Separation Processes: Principles and Design*, Weinheim, VCH Verlagsgesellschaft mbH, ISBN: 978-3-527-61546-9, 393-473. DOI:10.1002/9783527615476
33. Sharma, Y., Velamuri, R., Fagan, J., & Schaefer, J. (2020): Full-Spectrum Analysis of Bioactive Compounds in Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) as Influenced by Different Extraction Methods. *Molecules*, 25(20), 1-19.
<https://doi.org/10.3390/MOLECULES25204599>
34. Sik B. (2021): Rozmaringsav-tartalmú gyógynövénykivonatok előállítása és táplálékkiegészítőként, valamint funkcionális élelmiszerként való felhasználása, Doktori disszertáció, Mosonmagyaróvár, 62-64.
https://wamdi.sze.hu/images/2022/Sik_Beatrice_disszertacio_DOI.pdf
35. Singleton, V. L., Rossi, J. A., (1965): Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid „reagents”. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
36. Somogyi, L. (2008): Aktív anyagok szerepe rozmaring ízesítés napraforgó olajban, Doktori disszertáció, Budapest 22–34.
http://phd.lib.uni-corvinus.hu/305/1/somogyi_laszlo.pdf
37. Srinivasan, S., Vinothkumar, V., & Murali, R. (2019): Antidiabetic Efficacy of Citrus Fruits With Special Allusion to Flavone Glycosides. *Bioactive Food as Dietary Interventions for Diabetes*, 335–346.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813822-9.00022-9>
38. Suliman, S. S., Othman, N., Noah, N. F. M., & Kahar, I. N. S. (2023): Separation of phenolic compounds from fruit processing wastewater using liquid membrane technology:

<https://doi.org/10.1016/J.BEJ.2023.109096>

39. Teshale, F., Narendiran, K., Beyan, S. M., & Srinivasan, N. R. (2022): Extraction of essential oil from rosemary leaves: optimization by response surface methodology and mathematical modeling. *Applied Food Research*, 2(2), 100133.
<https://doi.org/10.1016/J.AFRES.2022.100133>
40. Toledo, R. T. (2007): *Fundamentals of Food Process Engineering*, Springer Science+Business Media, LLC. Athens, Georgia. ISBN-10: 0-387-29019-2
41. Uronnachi, E., Atuegwu, C., Umeyor, C., Nwakile, C., Obasi, J., Ikeotuonye, C., & Attama, A. (2022): Formulation and evaluation of hair growth enhancing effects of oleogels made from Rosemary and Cedar wood oils. *Scientific African*, 16, e01223.
<https://doi.org/10.1016/J.SCIAF.2022.E01223>
42. Virgolini, M. B., & Aschner, M. (2021): Molecular mechanisms of lead neurotoxicity. *Advances in Neurotoxicology*, 5, 159–213.
<https://doi.org/10.1016/bs.ant.2020.11.002>
43. Wang, M., Firman, J., Liu, L. S., & Yam, K. (2019): A Review on Flavonoid Apigenin: Dietary Intake, ADME, Antimicrobial Effects, and Interactions with Human Gut Microbiota. *BioMed Research International*, 1-13.
<https://doi.org/10.1155/2019/7010467>
44. Yang, J., Goksen, G., & Zhang, W. (2023): Rosemary essential oil: Chemical and biological properties, with emphasis on its delivery systems for food preservation. *Food Control*, 154, 110003.
<https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2023.110003>
45. http1:
<https://www.fortunebusinessinsights.com/herbal-medicine-market-106320>
46. http2: Rozmaring felépítése:
<https://www.herbrally.com/monographs/rosemary>

TÁBLÁZATOK ÉS ÁBRÁK JEGYZÉKE

TÁBLÁZATOK

1. táblázat: Rozmaring makroelemei	6
2. táblázat: Rozmaring mikroelemei	6
3. táblázat: Kalibrációs oldatsor a TPC értékek meghatározásához	21
4. táblázat: Kalibrációs oldatsor a TAC értékek meghatározásához	24
5. táblázat: Fit summary táblázat TPC értékekre	27
6. táblázat: Csökkentett kvadratikus modellre vonatkozó ANOVA tábla TPC mérésénél	28
7. táblázat: Fit summary táblázat antioxidáns kapacitás értékekre	36
8. táblázat: Csökkentett kvadratikus modellre vonatkozó ANOVA tábla TAC mérésénél	37
9. táblázat: TPC és TAC értékek mérésére vonatkozó koefficiens táblázat	45
10. táblázat: TPC és TAC értékek korrelációs mátrixa	46
11. táblázat: TPC és TAC értékek maximalizálása	47

ÁBRÁK

1. ábra: Rozmaring felépítése	4
2. ábra: A méréseim során használt rozmaring friss és szárított változata	5
3. ábra: Rozmaring bioaktív komponensei	7
4. ábra: Oldószer kiválasztás során kapott extraktumok	18
5. ábra: Előkísérleti mintákon végzett FRAP módszer eredményei	19
6. ábra: TPC értékek kiszámításához szükséges kalibráló oldatsor	21
7. ábra: TPC mérések eredményei	23
8. ábra: TAC értékek kiszámításához szükséges kalibráló oldatsor	24
9. ábra: TPC értékekre vonatkozó Normal plot of residuals diagram	29
10. ábra: TPC értékek egymástól való független eloszlása	30
11. ábra: Előrejelzett és tényleges TPC értékek	31
12. ábra: A teljesítmény és az idő hatása a kinyerhető polifenol-tartalomra a legalacsonyabb oldószer koncentráció (10 V/V%) mellett	32
13. ábra: A teljesítmény és az idő hatása a kinyerhető polifenol-tartalomra a legnagyobb oldószer koncentráció (90 V/V%) mellett	33
14. ábra: Koncentráció és idő hatása a kinyerhető polifenol-tartalomra a legkisebb teljesítményen (100 W)	34
15. ábra: A koncentráció és az idő hatása a kinyerhető polifenol-tartalomra a legnagyobb teljesítményen (800 W)	35
16. ábra: TAC értékekre vonatkozó Normal plot of residuals diagram	38
17. ábra: Az antioxidáns kapacitás értékeinek egymástól való függetlensége	39
18. ábra: Előrejelzett és tényleges antioxidáns kapacitás értékek	40
19. ábra: A teljesítmény és az idő hatása a legkisebb oldószer koncentráció (10 V/V%) mellett az antioxidáns kapacitás mérésénél	41
20. ábra: A teljesítmény és az idő hatása maximális oldószer koncentráció (90 V/V%) mellett az antioxidáns kapacitás mérésénél	42
21. ábra: Az idő és a koncentráció hatása minimális teljesítményen (100 W) az antioxidáns kapacitás mérésénél	43
22. ábra: Az idő és a koncentráció hatása maximális teljesítményen (800 W) az antioxidáns kapacitás mérésénél	44
23. ábra: A mért TAC és TPC értékek közti korreláció ábrázolása	46

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Elsősorban szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek és konzulenseimnek, Dr. Bánvölgyi Szilviának, és Molnár Máté Andrásnak, hogy segítséget nyújtottak mind a méréseim és a szakdolgozatom elkészítése során. Köszönöm a biztató szavaikat, és a támogatásukat.

Köszönettel tartozom a családomnak, a páromnak, és nem utolsó sorban a barátaimnak, hogy támogattak, és végig mellettem álltak a szakdolgozatom elkészítésének ideje alatt.

Battyányi Dorka Szakdolgozat

NYILATKOZAT

szakdolgozat hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: Battyányi Dorka
A Hallgató Neptun kódja: CH9SSG
A dolgozat címe: A rozmaring mikrohullámú extrakciója és értékes komponenseinek meghatározása
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 eltelté után nyilvánosan elérhető és kereshető lesz az Egyetem könyvtári repozitori rendszerében.

Kelt: 2023.11.05.



Hallgató aláírása

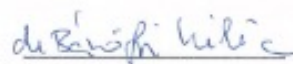
NYILATKOZAT

Battyányi Dorka (hallgató Neptun azonosítója: CH9SSG) konzulenseiként nyilatkozunk arról, hogy a szakdolgozatot áttekintettük, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattuk.

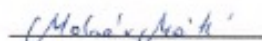
A szakdolgozatot a záróvizsgán történő védésre javasoljuk / nem javasoljuk.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem

Kelt: Budapest, 2023. október 30.



Dr. Bánvölgyi Szilvia
belső konzulens



Molnár Máté András
belső konzulens