

# **DIPLOMADOLGOZAT**

**Bartók Kornél**

**2023**



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

**Magas savtartalmú élelmiszerek amilázgátló hatásának**  
**vizsgálata emésztésszimulációval**

**Belső konzulens:** Dr. Abrankó László  
egyetemi tanár  
Dr. Tormási Judit  
egyetemi tanársegéd

**intézete/tanszéke:** Élelmiszerkémia és  
Analitika Tanszék

**Külső konzulens:** -

**Készítette:** Bartók Kornél

**Budapest**  
**2023**

# Tartalomjegyzék

1. Bevezetés és célkitűzés .....	1
2. Irodalmi áttekintés .....	3
2.1 Szénhidrátok .....	3
2.2 Szénhidrátok útja az emberi szervezetben .....	4
2.3 Glikémiás sajátságok, glikémiás index .....	6
2.4 Emésztésszimuláció .....	7
2.5 Szénhidrát analitika nehézségei, megoldása .....	9
2.6 Meggy, mint szénhidrát emésztést módosító étel .....	10
3. Anyagok és módszerek .....	12
3.1 Kísérlet helye .....	12
3.2 Kísérleti anyagok .....	12
3.3 Kísérleti eszközök, berendezések .....	12
3.4 A kísérleti munka menete .....	13
3.4.1. Előkészületek .....	13
3.4.2. <i>In vivo</i> száji szakasz optimalizálása .....	14
3.5. Emésztésszimuláció .....	15
3.5.1 <i>In vivo</i> száji szakasz .....	15
3.5.2 Szemi-dinamikus gyomor szakasz .....	15
3.5.3 Vékonybél szakasz .....	16
3.6. Glükóz tartalom meghatározása .....	16
3.6.1. Vizes közegű minták .....	16
3.6.2. Etanolos kicsapást követő mintakezelés .....	17
3.7 Glikémiás index meghatározása .....	17
3.8. Statisztikai értékelés .....	18
4. Eredmények, értékelésük .....	19

4.1 Emésztésszimuláció optimalizálása .....	19
4.1.1. <i>In vivo</i> száj szakasz .....	19
4.1.2. Nyálfelvétel .....	20
4.1.3. Szemi-dinamikus gyomri szakasz pH optimalizálása .....	20
4.2. Glükóz felszabadulás.....	23
4.2.1 Fehér kenyér emészthetősége.....	23
4.2.2 Meggylével kezelt fehér kenyér glükóz profilja.....	25
4.2.3 Meggylé kontroll-oldattal kezelt fehér kenyér emészthetősége .....	26
4.3. Glükóz felszabadulás összehasonlítása .....	27
4.3.1. Emészthető frakció szabad glükóz tartalma .....	27
4.3.1. Összes emészthető szénhidrát mennyiség .....	29
4.4 Glikémiás index meghatározása .....	31
5. Következtetések és javaslatok .....	34
6. Összefoglalás.....	36
Hivatkozások.....	38

## 1. Bevezetés és célkitűzés

A szénhidrátok az élelmiszerekben és italokban található három fő makrotápanyag egyike. Fő szerepük, hogy energiát szolgáltatnak az élő szervezetben. A szénhidrát dús ételek általában magas mennyiségű keményítőt, rostot és/vagy cukrot tartalmaznak, mely komponensek eltérő kémiai felépítésűek, így emésztési folyamatuk sem azonos. Az összetett szénhidrátokat, mint a keményítő emésztés során a szervezetünk lebontja egyszerű cukrokra (monoszacharidokra), és így tudja hasznosítani energia forrásként. A legtöbb más poliszacharidot nem energiaként bontjuk le, de fontos szerepet játszanak ételmi rostként. Az ételmi rostok számos egészséges hatással bírnak, mint például a testsúlyszabályozás, szérumlipidek és koleszterinszint csökkentése (Galisteo et al., 2008; Peerajit et al., 2012). Viszonylag magas szénhidráttartalom a feldolgozott élelmiszerekre, és a növényekből készült finomított élelmiszerekre jellemző, ide tartoznak például az édességek, üdítőitalok, asztali cukor pékáruk.

Az étrenddel kapcsolatos betegségek és állapotok, mint például az elhízás, a cukorbetegség, a szív- és érrendszeri betegségek és az ételallergia megjelenése miatt szükségessé vált annak megértése, hogy a különböző élelmiszerek hogyan viselkednek az emberi tápcsatornában. Az emésztés során lezajló folyamatok megismerésével az egészségesebb élelmiszerek kifejlesztését, és a megfelelő táplálkozási tanácsok megfogalmazását segíthetjük elő. A szénhidrát tartalmú élelmiszerek egyik fontos tulajdonsága a szervezetben való felszabadulásuk során a vércukorszint növelő képességük, melyet a glikémiás indexükkel jellemezhetünk. A glikémiás index (Salmerón et al., 1997), 0-100 közötti tartományban jellemzi, hogy egy bizonyos étel elfogyasztása során az mennyire emeli meg a vércukorszintet. Ha egy élelmiszernek ez az értéke magas, akkor a vércukorszintet gyorsan emeli meg, amely hatására a szervezet több inzulint termel, ami hatására a vércukorszint hirtelen visszaesik, ezzel éhség érzetet okozva.

A glikémiás index meghatározása *in vivo* módszerrel történik, azonban az embereken végzett *in vivo* vizsgálatok kivitelezésének azonban számos etikai, technikai és pénzügyi vonzata van, így az utóbbi években egyre nagyobb hangsúlyt fektetnek az *in vitro* emésztésszimulációkra, melynek előnye, hogy reprodukálhatóbbak, gyorsabbak, olcsóbbak, kockázatmentesek és nincs etikai korlátjuk. Az emésztésszimuláció három részből áll, száji szakasz, gyomri szakasz; vékonybél szakasz melyek lehetnek statikusak, dinamikusak, illetve szemi-dinamikusak.

A szénhidrátok mechanikai és kémiai emésztése a szájban kezdődik, ahol a nyálban található alfa-amiláz enzim elkezdi a keményítő hidrolízisét. A keményítő túlzott mértékben alakul át cukorrá, az megemeli a vér cukorszintjét, így bizonyos esetekben az amiláz enzim túlzott akti-

vitása és az inzulinhiány, vagy az inzulinrezisztencia miatt a vércukorszint emelkedik, ami hiperglikémiát eredményezhet. A hiperglikémia megfékezése érdekében számos tanulmány foglalkozik az amiláz enzim aktivitásának gátlásával (Horii et al., 1986).

Az alfa-amiláz-gátlók hasznosnak tűnnek, az olyan metabolikus szindrómák megelőzésében és orvosi kezelésében, mint a 2-es típusú cukorbetegség és az elhízás. Kimutatták, hogy az élelmiszerekben meg található különböző molekulák, mint például polifenolok, rostok vagy savak képesek, ennek az enzimnek a működését gátolni (Narita & Inouye, 2015). A meggy Magyarországon termelt, elterjedt gyümölcs, amely jelentős mennyiségű polifenol tartalommal és magas savtartalommal rendelkezik, így képes lehet az amiláz enzim működését gátolni, mellyel csökkenti a lebontott szénhidrátok mennyiségét, ennek következtében csökkentheti az élelmiszerek glikémiás indexét.

A munkám célja volt hogy vizsgáljam, hogy a meggylé elfogyasztása milyen hatással lehet a szénhidrátok emésztés során történő hidrolízisére. Ehhez egy hibrid emésztésszimulációs vizsgálatot alkalmaztam, *in vivo* száji szakasszal, szemi-dinamikus gyomri szakasszal és statikus vékonybél szakasszal. Az emésztés folyamata alatt vett mintákból, minta előkészítést követően spektrofotométerrel megvizsgáltam az emésztés során felszabadult glükóztartalmat, majd kiszámoltam a glikémiás indexét. A vizsgálatokat standard fehér kenyérral végeztem, melyet megvizsgáltam magában, illetve abban az esetben, amikor meggylevet adtam hozzá, így össze tudtam hasonlítani, hogy a glükóz felszabadulásban a két esetben volt-e eltérés, és hogy ez csökkentheti-e a kenyér glikémiás-indexét. Emellett annak vizsgálatára, hogy a meggylé által esetlegesen kifejtett hatást a benne lévő polifenolok és rostok, vagy a savtartalma okoz a vizsgálatokat egy a meggylevet reprezentáló kontroll-oldattal is végrehajtottam. Az eredmények a savasság hatásának feltárását segítik elő.

## 2. Irodalmi áttekintés

### 2.1 Szénhidrátok

A szénhidrátok a fehérjék és a zsírok mellett az élelmiszerekben és italokban található három fő tápanyag egyike, és a természetes, valamint feldolgozott élelmiszerek széles skáláján megtalálhatók. Fő szerepük, hogy energiát szolgáltatnak az élő szervezetben, valamint más fontos szerves molekulák felépítésében is részt vesznek, mint az RNS és a DNS.

A szénhidrátok, másnéven szacharidok szén (C), hidrogén (H), és oxigén (O), atomokból álló biomolekulák, amelyekben általában a hidrogén és oxigén 2:1 atom arányú. A szacharidok szerkezetük alapján négy különböző csoportra oszthatóak: monoszacharidok, diszacharidok, oligoszacharidok, poliszacharidok.

A monoszacharidok a legegyszerűbb cukrok, melyek már nem hidrolizálhatóak kisebb cukormolekulákká. A monoszacharidokat három jellemző alapján osztályozzák: i) a karbonil-csoport elhelyezkedése, ii) a benne lévő szénatomok száma, és iii) a királításuk. Ezek alapján, ha a karbonil-csoport aldehid, a monoszacharid aldóz; ha a karbonil-csoport keton, a monoszacharid ketóz. A három szénatomos monoszacharidokat triózoknak, a négy szénatomosokat tetrózoknak, az öt szénatomosokat pentózoknak, a hat szénatomosokat hexózoknak és így tovább nevezik. A két vagy több hidroxil-csoporttal rendelkező aldehidek vagy ketonok legfontosabb képviselője a szőlőcukor (glükóz) és a gyümölcscukor (fruktóz). A monoszacharidok az anyagcsere fő üzemanyagforrása, amelyeket mind energiaforrásként, mind pedig a bioszintézisben felhasználnak. Ha a monoszacharidokra nincs azonnali szükség, átalakulnak helytakarékosabb (kevésbé vízoldható) formákká, gyakran poliszacharidokká.

Két egyesített monoszacharidot diszacharidnak nevezünk. Ilyen például a laktóz, szacharóz, maltóz, melyeket egy kovalens kötés, úgynevezett glikozidos kötés köt össze. Az oligoszacharidok kisszámú monoszacharid egységekből állnak (3-8 egység). A poliszacharidok magasabb számú monoszacharid-egység összekapcsolódásából létrejövő makromolekulák. A két legfontosabb képviselője a keményítő, valamint cellulóz, de ide tartozik még például a glikogén és a pektin, melyek glükóz molekulák sokaságából épülnek fel. A keményítő az ember legfontosabb energiaforrása, mely a növények zöld leveleiben keletkezik a fotoszintézis során keletkező glükózeleslegetől, és tartalék táplálékként szolgál a növény számára.

Az emberekben, és más állatokban a növényekből származó keményítő lebomlik az alkotó cukormolekulákra, amelyek aztán energiát szolgáltatnak a szöveteknek. Viszonylag magas szénhidrát-tartalom a feldolgozott élelmiszerekre, és a növényekből készült finomított

élelmiszerekre jellemző, beleértve az édességeket, az asztali cukrot, mézet, üdítőitalokat, kenyereket, tésztákat és reggeli gabonaféléket. Az élelmiszerekben elfogyasztott szénhidrát az egyszerű cukrok esetében grammonként 3,87 kilokalória energiát ad, az összetett szénhidrátok esetében pedig 3,57-4,12 kilokalóriát grammonként. Ezt az ételek emészthető szénhidrát tartalma adja.

Az emészthető szénhidrátok, mint például a keményítő, a keményítőalapú termékek, a szacharóz, a laktóz, a glükóz és néhány cukoralkohol közvetlenül energiával látnak el bennünket, míg más szénhidrátok, köztük a nagy molekulású poliszacharidok, főként a növényi sejtfalakból, élelmi rosttal látnak el bennünket. Az emészthető szénhidrát alacsonyabb mennyisége általában a finomítatlan élelmiszerekhez társul, mivel ezek az élelmiszerek több rostot tartalmaznak, beleértve a babot, a gumósokat, a rizst és a finomítatlan gyümölcsöket. Az állati eredetű élelmiszerek általában a legalacsonyabb szénhidrát-tartalommal rendelkeznek.

A legtöbb más poliszacharidot nem energiaként bontjuk le, de fontos szerepet játszanak élelmi rostként. Az élelmi rostokat oldhatóság alapján két fő csoportba osztjuk, oldható és oldhatatlan. Az élelmi rostok számos egészséges hatással bírnak, mint például a testsúlyszabályozás, szérumlipidek és koleszterinszint csökkentése (Galisteo et al., 2008; Peerajit et al., 2012), amelyek a fizikai-kémiai és funkcionális tulajdonságainak tulajdoníthatók. A nagy vízmegtartó képességgel és vízduzzadási kapacitással rendelkező oldhatatlan élelmi rostok fokozzák a jóllakottságot, növelik a széklet mennyiségét és lerövidítik a székletürítési időt, ezáltal csökkentik az elhízás, a székrekedés és a vastagbélrák kockázatát (Galisteo et al., 2008). A gabonafélék, zöldségek és gyümölcsök az élelmi rostok leggazdagabb forrásainak számítanak. A szénhidrátokból az emberi szervezetben emésztés során tudunk egyszerű cukrokat, főleg glükózt, felszabadítani. Az emésztőrendszer egy összetett rendszer, amelynek célja, hogy a szervezetet optimális táplálékkal és energiával lássa el. Ezért visszacsatolási rendszerek szabályozzák az emésztés minden lépését, azonban ez egyénileg eltérő lehet (pl. életkor, szervezet állapota, szokások).

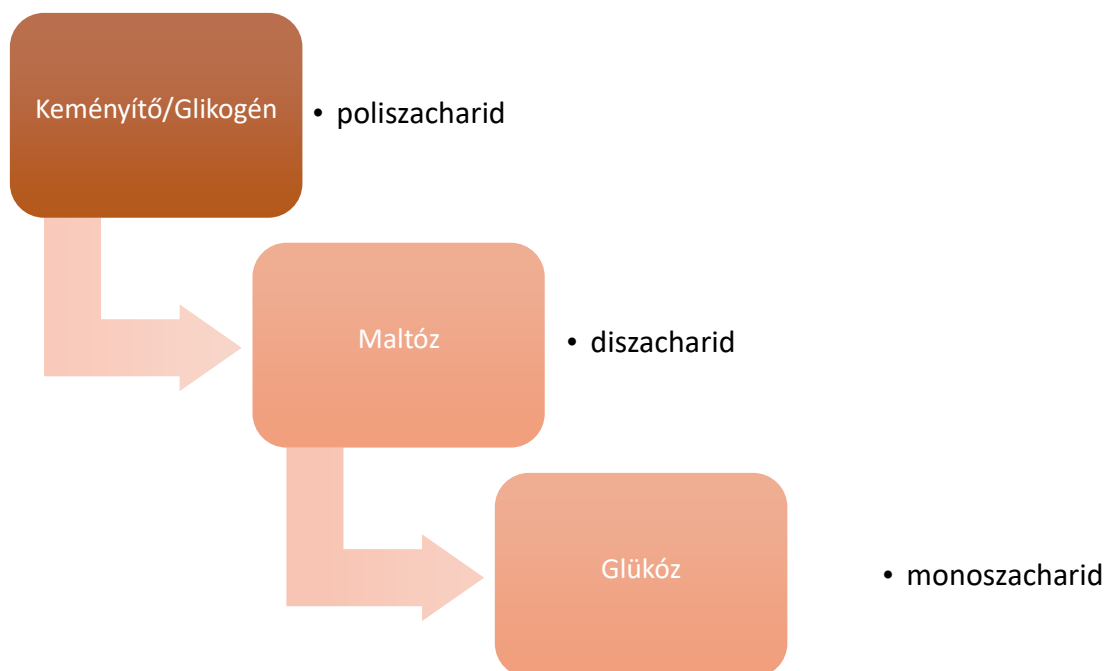
## 2.2 Szénhidrátok útja az emberi szervezetben

A szénhidrátok emésztése a testünkben egy olyan folyamat, mely során a szénhidrátokat lebontjuk egyszerűbb cukrokká, hogy azokat energiává alakíthassuk. A leggyakoribb szénhidrátok, melyeket táplálkozás során beviszünk az egyszerű cukrok és a keményítők.



A szénhidrátok mechanikai és kémiai emésztése a szájban kezdődik, ahol a nyálban lévő amiláz nevű emésztőenzim a keményítőt maltózzá és dextrózzá bontja (1. ábra), a keményítőnek körülbelül 5%-a bomlik le a szájban. A rágással aprított és a nyállal kevert falat a nyelőcsövön keresztül a gyomorba kerül, ahol a szénhidrátok emésztése a gyomri kedvezőtlen körülmények miatt fokozatosan leáll. Az amiláz enzim a gyomor savas viszonyai között inaktiválódik, így ebben a szakaszban csak addig zajlik kémiai lebontás, amíg a pH le nem csökken, azonban a mechanikai bontás tovább folytatódik.

A szénhidrát-emésztés legfontosabb része a vékonybélben történik. Itt a gyomorból érkező emésztmény keveredik a hasnyálmirigy által kiválasztott különböző emésztőenzimekkel. Ez az enzimkeverék tartalmazza a hasnyálmirigy-amiláz enzimet is, amely ismét megkezdí a dextrinek egyre rövidebb szénhidrátláncokra történő lebontását. Ezen kívül a bélbolyhok sejtjei is kiválasztanak enzimeket, melyeket kefeszegély enzimeknek nevezük. Ezek az enzimek, amelyeket együttesen diszacharidáznak neveznek, ide tartozik például a szukráz, a maltáz és a laktáz. A szukráz a szacharózt glükóz- és fruktózmolekulákra bontja. A maltáz a maltóz két glükóz egysége közötti kötést, a laktáz pedig a galaktóz és a glükóz közötti kötést bontja meg. Az így létrejött, emésztett cukrok a vékonybél falán keresztül a véráramba kerülnek, ahol a test sejtjeihez jutva energiaforrásként szolgálnak.



1. ábra Szénhidrátok hidrolízise

Az étrenddel kapcsolatos betegségek és állapotok, mint például az elhízás, a cukorbetegség, a szív- és érrendszeri betegségek és az ételallergia megjelenése miatt szükségessé vált annak megértése, hogy a különböző élelmiszerek hogyan viselkednek az emberi bélrendszerben, ami végső soron segíteni fogja az egészségesebb élelmiszerek kifejlesztését és a megfelelő táplálkozási tanácsok megfogalmazását.

### 2.3 Glikémiás sajátságok, glikémiás index

A glikémiás index a szénhidrátok vércukorszint-emelő képességének minőségi mutatója (Salmerón et al., 1997). Egy adott élelmiszer glikémiás indexének meghatározása során a felszabaldult glükóz mennyiségét egy referenciaételhez – általában egy szelet fehér kenyérhez vagy egyszerű glükózhoz – viszonyítva rangsorolják (Jenkins et al., 1981). Ez által egy számszerű értéket, az úgynevezett glikémiás indexet (GI) hozva létre. Ez az számérték, 0-100-as tartományban jellemzi a termékeket vagy ételeket, aszerint, hogy mennyire emelik meg a vércukorszintet. Az 1. táblázatban néhány élelmiszer glikémiás indexét tüntettem fel.

1. táblázat Élelmiszerek glikémiás indexe

	GI	példa
<b>magas</b>	>90%	szőlőcukor, méz, malátacukor, cukrozott üdítőitalok, fehér lisztből készült pékáruk
	70-90%	répacukor, nádcukor, főtt tészta,
<b>közepes</b>	50-69%	zabpehely, magas cukortartalmú gyümölcsök (pl: banán, ananász, szőlő), kukorica
<b>alacsony</b>	30-50%	tej, joghurt, kefir, legtöbb hazai gyümölcs
	15-30%	fruktóz, cukoralkoholok (pl: szorbit) lencsefélék, babfélék, olajos magvak
	<15%	legtöbb zöldség (pl: brokkoli, spárga karfiol, zeller, uborka)

Glikémiás indexe az olyan élelmiszereknek van, melyek jelentősebb mennyiségű szénhidrátot tartalmaznak. Minél magasabb glikémiás indexszel rendelkezik egy élelmiszer, annál jobban és gyorsabban emeli meg a vércukorszintet. Erre a szervezet nagyobb inzulintermeléssel reagál, melynek következtében a vércukorszint hirtelen visszaesik, ingadozó vércukorszintet okozva, amely következtében hamar éhséget okoz. Az alacsony GI-el rendelkező ételeket tartalmazó étrend epidemiológiai és klinikai vizsgálatok szerint növeli a fogyást, és csökkenti az elhízás, a 2-es típusú cukorbetegség és a szív- és érrendszeri betegségek kockázatát (Linkner & Humphreys, 2012) (Goh et al., 2015).

Az élelmiszerek glikémiás indexe alapján számolható a glikémiás terhelést. Ezt az értéket úgy számítják ki, hogy a glikémiás indexet megszorozzák az élelmiszer szénhidrát tartalmával. Vég-eredményben a glikémiás terhelés, olyan mutatónak mondható, amely nemcsak a szénhidrátok minőségét, hanem mennyiségét is képes reprezentálni. A glikémiás terhelés értékek esetében a magas GL >20, az alacsony pedig <10. Fontos azonban megjegyezni, hogy számos tényező befolyásolja az élelmiszerek glikémiás indexét és glikémiás terhelését. Ezek közé tartozik az étel zsír- és rosttartalma, a főzés módja és időtartama, a beteg felszívódási sebessége és a mikro-otápanyag-tartalom. (Lu et al., 2023)(Lu et al., 2023).

A glikémiás index és a glikémiás terhelés, amelyek az étrendi szénhidrátok mennyiségét és minőségét jelölik, indikálhatja az élelmiszerek és ételek által kiváltott a halálzási kockázatot azáltal, hogy összefüggésben van a krónikus betegségek, köztük a metabolikus szindróma, a cukorbetegség, a szív- és érrendszeri betegségek és a rák kockázatával (Wolever & Mehling, 2003).

A glikémiás index meghatározása *in vivo* módszerrel történik, azonban az embereken végzett *in vivo* vizsgálatok alkalmazásának azonban számos etikai, technikai és pénzügyi vonzata van, amellett, hogy az egyének között nagy a variabilitás, és az emésztőrendszerhez nem lehet invazív eljárások nélkül hozzáférni (Frost & Dornhorst, 2013). Ebben az értelemben statikus, féldinamikus és dinamikus *in vitro* emésztési protokollokat fejlesztettek ki, és alkalmaznak nagymértékben egyszerűségük, alacsony költségük, és a humán kísérletekkel összehasonlítva etikai problémák hiánya miatt; ennek ellenére ezeknek következetesen és ellenőrzött módon kell szimulálniuk a gasztrointesztinális körülményeket (Graça et al., 2021; Maibam et al., 2023).

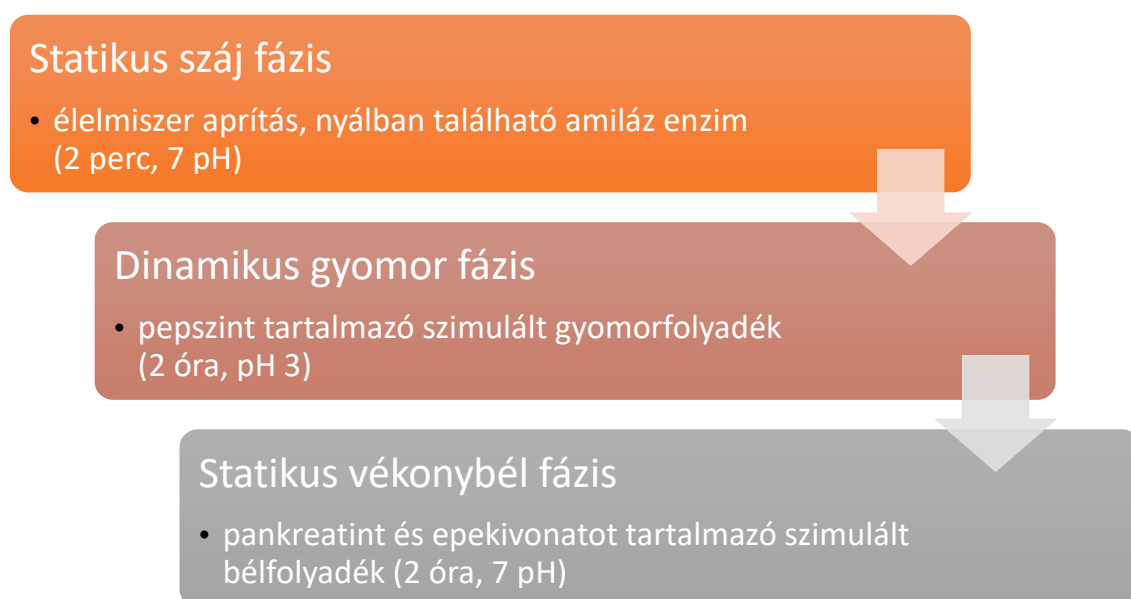
## 2.4 Emésztésszimuláció

Az emésztési folyamatokat szimuláló *in vitro* módszereket széles körben alkalmazzák az élelmiszerek tápcsatornában való viselkedésének tanulmányozására. Bár a humán táplálkozási vizsgálatok (*in vivo* módszerek) nyújtják a legrelevánsabb táplálkozással kapcsolatos kérdésekre a választ, az *in vitro* módszerek előnye viszont, hogy reprodukálhatóbbak, gyorsabbak, olcsóbbak, kockázatmentesek és nincs etikai korlátjuk. Ezen módszerek nagyszámú minta párhuzamos mérését teszik lehetővé, reprodukálható, választott ellenőrzött körülményeket és könnyű mintavételi lehetőségeket nyújtva.

A szimulált emésztési módszerek jellemzően a szájon át történő, a gyomor- és a vékonybél-fázist, valamint esetenként a vastagbélfermentációt foglalják magukban. Ezek a módszerek megpróbálják utánozni az *in vivo* fiziológiai körülményeket, figyelembe véve többek között az emésztőenzimek jelenlétét és koncentrációját, a pH-t, az emésztési időt és a sókoncentrációt. Az emésztésszimulációs modellek lehetnek statikusak, dinamikusak, illetve szemi-dinamikusak.

Az emberi emésztés statikus modelljeit olyan különböző tudományos kérdések megválaszolására használták, mint a gyógyszerek, mikotoxinok, és makrotápanyagok, például fehérjék, szénhidrátok és lipidek emészthetősége és biológiai hozzáférhetősége (azaz a mátrixból felszabaduló molekulák mennyisége). Erre a célra alkalmas statikus emésztési modell az INFOGEST COST-akció által kidolgozott nemzetközi, harmonizált protokoll, ami a felnőttek felső tápcsatornájában történő emésztés statikus szimulációját teszi lehetővé (Minekus et al., 2014). Ezt a protokollt széles körben használják, azonban csak a végpontok értékelésére korlátozódik, a lehetséges szerkezeti változások figyelembevétele nélkül.

Másrészt léteznek dinamikus modellek, amelyek fiziológiailag relevánsabb adatokat szolgáltatnak, de drágák és nehezen hozzáférhetőek. A kettő közötti szakadék csökkentésére fejlesztettek ki egy szemi-dinamikus *in vitro* módszert (2. ábra), amely egy köztes modellt nyújt; a harmonizált statikus modellre épül, és most már tartalmazza az emésztés gyomorszakaszával kapcsolatos kulcsfontosságú kinetikai szempontokat, beleértve a fokozatos savasodást, a folyadék- és enzimszekréciót és a kiürülést, emellett olyan egyszerű eszközt biztosít, amely a laboratóriumok széles körében használható (Mulet-Cabero et al., 2020).



2. ábra *In vitro* szemi-dinamikus emésztésszimuláció

A módszertan egyik szempontja, amely jelenleg nem következetes az *in vitro* módszerek között, a szimulált gyomorfázisú emésztést megelőző (nyálból származó) alfa-amiláznak való kitettség. *In vivo* a rágási folyamatnak van egy mechanikai aspektusa – az élelmiszer szerkezetének jelentős megbontása a fogak és a nyelv együttes hatása révén – és egy kémiai/enzimes aspektusa – a megrágott élelmiszer keveredése a keményítő-hidrolizáló alfa-amiláz enzimet tartalmazó nyállal. A rágás nettó hatása az élelmiszer szemcseméretének csökkentése, és egy megfelelő méretű, kenhető, lenyelésre biztonságos bolus létrehozása. Ahelyett, hogy ezt a folyamatot próbálnák szimulálni, számos *in vitro* módszerben önkénteseket alkalmaznak, akik az *in vitro* emésztés előtt *in vivo* – emberi szájból végzett – rágás után szolgáltatják a vizsgálati mintákat (Muir et al., 1995). Emellett az *in vivo* száji szakasznak előnyei közé tartozik, hogy nem igényel különböző berendezéseket, valamint alfa-amiláz enzimet sem, így a mérés anyagi vonzata is alacsonyabb. Ez a módszer azonban nem alkalmazható folyadékok esetében, valamint olyan szilárd élelmiszerek esetében, sem amelyet a vizsgálni kívánt formájában nem fogyasztunk el.

A szájon át történő feldolgozás viselkedésének hatása a bolus tulajdonságaira, és ennek későbbi hatása a tápanyagok emésztésére és hasznosulására az utóbbi években egyre nagyobb kutatási terület. Különösen a növényi alapú élelmiszerek, például a gabonafélék és hüvelyesek esetében, amelyeket általában ép szövetként fogyasztanak, így ezen termékek szénhidrát, azon belül is főként keményítő tartalmának vizsgálatára kimondottan alkalmas ez a módszer (Mosca et al., 2015), azonban a szénhidrát analitika során számos kihívással találkozhatunk, különösen, ha pontos eredményeket szeretnénk elérni.

## 2.5 Szénhidrát analitika nehézségei, megoldása

A szénhidrát analitika az élelmiszerek, biológiai minták, gyógyszerek és különböző anyagokban található szénhidrátok mennyiségének és összetételének meghatározására irányuló tudományos és analitikai módszerek átfogó területe. A szénhidrát analitika kihívást jelenthet, mivel a szénhidrátoknak sokféle típusa létezik, sokféle reakcióra képesek és könnyen lebomolhatnak, különösen magas hőmérsékletű vagy savas körülmények között. Emellett a mátrix hatások is megnehezítik, ugyanis általában a mintában szénhidrátok mellett más összetevők is jelen vannak, amelyek befolyásolhatják az eredményt. A megfelelő analitikai módszer kiválasztása a

szénhidrátok típusától és a szükséges érzékenységtől függ. Számos különböző módszer áll rendelkezésre a szénhidrátok meghatározására, mint például spektroszkópia, kromatográfia és titrimetria (Ncama & Magwaza, 2021). A szénhidrátok vizsgálata spektrofotométerrel egy gyakori és hatékony analitikai módszer, különösen a cukortartalom meghatározására. Spektrofotométer segítségével különböző reakció vagy származékképzés után a szénhidrátok specifikus hullámhosszú fényabszorpcióját mérhetjük, amely az anyagok koncentrációjával arányos.

## 2.6 Meggy, mint szénhidrát emésztést módosító étel

A nagy molekulák, mint a keményítő nem tudnak átjutni, a vér-agy gáton, ehhez előbb az alfa-amiláz enzimnek le kell bontania kisebb cukrokká. Ha a keményítő túlzott mértékben alakul át cukorrá, az megemeli a vér cukorszintjét, akkor az inzulin szerepe lép működésbe azáltal, hogy a sejteket arra utasítja, hogy a felesleges cukorrészeket metabolizálják és energiaforrásként, azaz glikogénként tárolják. Bizonyos esetekben az amiláz enzim túlzott aktivitása és az inzulinhiány vagy az inzulinrezisztencia miatt a vércukorszint emelkedik, ami hiperglikémiát eredményezhet. A hiperglikémia megfékezése érdekében számos tanulmány foglalkozik az amiláz enzim aktivitásának gátlásával (Horii et al., 1986). Az alfa-amiláz-gátlók hasznosnak tűnnek, az olyan metabolikus szindrómák megelőzésében és orvosi kezelésében, mint a 2-es típusú cukorbetegség és az elhízás.

Emellett azt is kimutatták, hogy az élelmiszerekben megtalálható különböző savak képesek ennek az enzimnek a működését gátolni (Narita & Inouye, 2015). Például 2023-as kutatásban a barna algából kivont palmitinsav alfa-amiláz és alfa-glükozidáz gátló hatását állapították meg (Paramasivam et al., 2023), egy másik kutatásban szintén meghatározták, hogy a kávéban, almában, burgonyában jelenlévő klorogén- vagy fenolsavak kis hatásfokkal, de szintén gátolják ezeknek az enzimeknek a működését (Nyambe-Silavwe & Williamson, 2018).

Gyümölcsök ilyen jellegű hatásának vizsgálatával több *in vivo* (Kerimi et al., 2017) és *in vitro* (Freitas and Le Fuenteun, 2019) kísérlet is foglalkozott az elmúlt években. A kutatások főbb tárgya a gyümölcsök, gyümölcslevek és egyéb magas polifenol tartalmú italok glikémiás sajátosra gyakorolt hatásának vizsgálata volt. Ugyan a legtöbb vizsgált ital hatásosnak bizonyult fehér kenyér glükóz felszabadulásának visszafogásában, azonban az eredményeik alapján nem következtethető egyértelműen a hatást kiváltó ok, vagyis hogy a változást a jelenlévő polifenolok (vagy egyéb molekulák), vagy az egyes italok egyéb (például savas) karaktere okozzák.

A meggy is egy olyan élelmiszer, mely amellett hogy az egyik legtöbb gyulladást csökkentő anyagot tartalmazza (Blando & Oomah, 2019), sok bioaktív hatással rendelkező molekulát (polifenolok, rostok) és szerves savat tartalmaz (Papp et al., 2010) (Papp et al., 2010), amelyek gátolhatják az alfa-amiláz enzim működését ez által jótékony hatást gyakorolnak az emésztésre.

## 3. Anyagok és módszerek

### 3.1 Kísérlet helye

Kísérleteimet a MATE, Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet, Élelmiszerkémia és Analitika Tanszék hallgatói laboratóriumában végeztem.

### 3.2 Kísérleti anyagok

- kenyér minta
- meggylé
- meggy kontroll (5.6% glükóz, 4,5% fruktóz, 2,4% galaktóz, 1,3 almasav)
- desztillált víz
- jég
- pH 7 és pH 4 pufferoldat
- szervesetlen gyomor szimuláns pH = 7 (SZGY)
- szervesetlen vékonybél szimuláns pH = 7 (SZV)
- SIGMA - ALDRICH sertés epe kivonat
- SIGMA - ALDRICH pankreatin sertés hasnyálmirigyből
- SIGMA - ALDRICH pepszin sertés gyomornyálkahártyából
- kalcium-klorid oldat ( $\text{CaCl}_2$  0,3 M)
- nátrium-hidroxid oldat (NaOH 1 M)
- sósav oldat (HCl 1 M)
- Megazyme amiloglükozidáz [8 ml, 3300 U/ml oldható keményítőre (vagy 200 U/ml oldható keményítőre) p-nitrofenil  $\beta$ -maltozid] pH 4,5 és 40°C mellett.
- Megazyme GOPOD reagens puffer oldat (50 ml, pH 7,4). p-hidroxibenzoésav és nátrium-azid (0,09% w/v).
- Megazyme D-glükóz standard oldat 0,2 (w/v) benzoésavban

### 3.3 Kísérleti eszközök, berendezések

- főzőpohár
- Petri-csésze
- analitikai mérleg
- automata pipetta
- hőmérő



- Eppendorf cső (2 mL) és hozzá tartozó állvány
- centrifuga cső (50 mL) és hozzá tartozó állvány
- Hanna Instruments pH 209 pH mérő
- Schott fűthető mágneses keverő
- mágneses keverőbaba
- Labinco L46 Vortex
- Realsonic Cleaner ultrahangos kád
- Hettich Zentrifugen Mikro 22 R centrifugáló berendezés
- Auro.Science Consulting termosztáló berendezés
- Thermo Electron Corporation Evolution 300 spektrofotométer

### 3.4 A kísérleti munka menete

#### 3.4.1. Előkészületek

##### 3.4.1.1. Kenyér minta elkészítése

A kenyér elkészítéséhez az alábbi receptúrát alkalmaztam: 500 g BL50 liszt, 7 g instant élesztő, 340 ml víz, 4 g cukor, 7 g só. A dagasztást Bosch MUM4830-as típusú géppel 2-es fokozaton végeztem, amíg a tiszta sima lett, ezután 30 percig kelesztettem 50 °C-on, majd Memmert szárítószekrényben sütöttem 50 percen át 180 °C-on. A késztermék nedvességtartalma 42,51% (105 °C) volt. Az emészthető keményítő tartalmat elővizsgálatok során Megazyme enzimes kit (K-DSTRS) segítségével meg lett határozva, mely alapján a vizsgált kenyér minta összes emészthető keményítő (TDS – total digestible starch) tartalma 49 g/100 g termék volt.

##### 3.4.1.2. Meggylé előkészítése

A vizsgálatok során használt meggylevet magyar gazdaságokból beszerzett Érdi bőtermő fajtájú meggyből (*Prunus cerasus*), a MATE Élelmiszertudományi és Technológiai Intézetének Gyümölcs- és Zöldségfeldolgozás Technológia Tanszékén készítették. A meggylé laboratóriumi körülmények között enzim kezelés nélküli hideg préseléssel zajlott, majd a leveket 200 ml-es kiserelésben pasztörözés után palackozták. A bontatlan meggyleveket felhasználásig szobahőmérsékleten tároltam. Az emésztésszimulációs kísérletekhez használt meggylé mintát felbontás után hűtőszekrényben tároltam. A kísérleteket 2 héten belül elvégeztem, ugyanazon minta felhasználásával.

A meggylé savtartalmát potenciometrikus titrálással határoztam meg, 1 M NaOH-oldatot használva, pH=7-es ekvivalencia pontig, mely 1,3% volt (almasav egyenértékben kifejezve). A

meggylé cukor tartalmát HPLC-RI módszerrel határoztuk meg, Carrez-oldatos mintatisztítás után. A meggylé cukortartalma (~10%) a következő cukrokból állt: 5.6% glükóz, 4.5% fruktóz, and 2.4% galaktóz.

#### 3.4.1.3. Meggylé kontroll-oldat előkészítése

A meggylé kontroll-oldat készítéséhez a meggylé előzőleg meghatározott sav-, és cukortartalmát vettem alapul. A kontroll-oldat 5.6% glükózt, 4.5% fruktózt, and 2.4% galaktózt, valamint 1,3% almasavat tartalmazott, melyeket desztillált vízben oldottam fel.

A kontroll-oldat az emésztésszimuláció során pozitív kontrollként szolgált, annak érdekében, hogy a meggylé savtartalmának hatását elkülönítve tudjam megvizsgálni, a polifenolok és rostok befolyásoló hatástól függetlenül.

#### 3.4.1.4. Emésztés előkészítése

A kenyér mintából analitikai mérlegen kimértem 1,6500 g-t, valamint mágneses keverő babát helyeztem egy főzőpohárba és lemértem együttes tömegüket. Az együttemésztési kísérletek során a meggylevet (3,35 ml) és a meggylé kontroll-oldatot (3,35 ml) a főzőpohárba mértem.

Előkészítettem az enzimeket centrifuga csövekbe a gyomor és a vékonybél szakaszhoz. A gyomri szakaszhoz tartozik a pepszin, amelyből kimértem 23,1 mg-t, amelyet feloldottam 1,9 ml gyomor szimulánsban. A vékonybélhez pedig a pankreatin, amelyből 265,1 mg-t mértem ki, amelyet 5,5 ml vékonybél szimulánsban oldottam fel, majd Vortex segítségével elegyítettem, ezt követően vizes ultrahangba helyeztem 5 percre, ezután pedig centrifugába 5 percre 4 °C-on, 6000 fordulatszámon. A centrifuga végeztével a felülúszót leöntöttem egy másik centrifuga csőbe, majd hűtőbe helyeztem felhasználásig. Az epe kivonatot szintén feloldottam 2,6 mL vékonybél szimulánsban, elegyítettem Vortex használatával, majd használatig 37 °C-os termosztátba helyeztem.

A mérés egy *in vivo* száji szakasszal és szemidinamikus gyomri szakasszal zajló szimuláció, ahol a száji szakaszt én végeztem és a pH-t a gyomorban szabályozott módon csökkentettem, majd a vékonybél a statikus Infogest protokoll alapján zajlott.

### 3.4.2. *In vivo* száji szakasz optimalizálása

#### 3.4.2.1. Rágási protokoll standardizálása

A vizsgálat előtt, több résztvevő segítségével megvizsgáltam, hogy az adott 1,65 g-os kenyérminta mennyi rágást igényel, illetve mennyi ideig tart ez a folyamat. A kapott

eredmények alapján meghatároztam az optimális rágási számot, illetve időt, majd ezt alkalmaztam minden további mérésnél.

#### 3.4.2.2. Nyálfelvétel

A kenyérminta nyálfelvételének meghatározását három párhuzamos méréssel mértem, ahol hatszor 1,65 g kenyeret mértem ki, melyből hármat megrágtam, majd a bolust Petri-csészére ürítettem, míg a hármat rágás nélkül helyeztem a Petri-csészére. A mintákat tartalmazó Petri-csészéket  $103 \pm 1$  °C-ra szárítószekrénybe helyeztem, majd pedig tömegállandóságig hőkezelttem. A mérés megkezdése előtt a kiszáritott (30 min,  $103 \pm 1$  °C) Petri-csészék tömegét is lemértem. A tömegállandóság elérése után lemértem a tömegét megrágott valamint, a sima kenyér mintának. A sima kenyér minta tömegveszteségéből következtethetem az alaphól benne lévő nedvességtartalomra, így a megrágott kenyér tömegveszteségéből kivonva azt megkaphattuk a felvett nyál tömegét. Ez alapján az alábbi összefüggés alapján (1. egyenlet) kiszámoltam megrágott minta nyálfelvételét.

Nyálfelvétel (%)

$$= \frac{(m_{ny1} - m_{ny0}) - (m_{ny2} - m_{ny0})}{(m_{ny1} - m_{ny0})} - \frac{(m_{sz1} - m_{sz0}) - (m_{sz2} - m_{sz0})}{(m_{sz1} - m_{sz0})} * 100$$

1. egyenlet: A nyálfelvétel számolásához használt képlet, ahol;  $m_{ny1}$  – üres petricsésze tömege;  $m_{ny2}$  – petricsésze + bolus tömege;  $m_{ny3}$  – szárított petricsésze + bolus tömege;  $m_{sz1}$  – üres petricsésze tömege;  $m_{sz2}$  – petricsésze + kenyér tömege;  $m_{sz3}$  – szárított petricsésze + kenyér tömege

### 3.5. Emésztésszimuláció

#### 3.5.1 *In vivo* száji szakasz

A korábban kimért kenyeret 23 másodperc alatt 29-szer megrágtam, majd pedig a főzőpohárba ürítettem. Lemértem az együttes tömegüket, majd kiszámoltam a szükséges víz mennyiségét és hozzáadtam, ezután a főzőpoharat felhelyeztem a fűthető mágneses keverőre. A szájban lejátszódó szakasz 2 percig tart, amelyet a legelső rágástól kezdve mértem.

#### 3.5.2 Szemi-dinamikus gyomor szakasz

A két perc letelte után hozzáadtam a gyomor szimulánsból 6,4 mL, 5 µL CaCl<sub>2</sub> oldatot, a korábban elkészített pepszin oldatból 1,6 ml-t, valamint 1,635 ml desztillált vizet. Megmértem a minta pH értékét, majd hozzáadtam 20 µL sósav oldatot, ezt a lépést 5 percenként

megismételtem, amíg a pH értéke nem érte el a 2,0-t, inentől több sósav oldatot nem adtam hozzá csak a pH-ját mértem a 90. percig.

### 3.5.3 Vékonybél szakasz

Az emésztésszimuláció 120. percében megmértem a minta pH értékét, majd hozzáadtam azokat az oldatokat melyek a vékonybél szakaszt fogják jelteni; 4,26 ml vékonybél szimulánst, 20  $\mu\text{L}$   $\text{CaCl}_2$  oldatot, 1,25 mL epe oldatot, 2,5 mL pankreatin oldatot. A minta pH értékét NaOH oldattal beállítom 7-es értékre, majd az elhasznált NaOH oldat függvényében adtam még a mintához desztillált vizet. A NaOH valamint a desztillált víz együttes térfogata lesz 1,780 mL. A vékonybél szimuláció során 120, 150, 180, 210, 240 percnél megmértem a minta pH értékét, majd kipipettáztam a 2 mL-t mikrocsovekbe, melyek tömegét lemértem, majd jégágyra helyeztem őket.

A mintából a szimuláció során kipipettáztam 2 mL-t a 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210, és 240 percben, a korábban előkészített mikrocsovekbe, melyeknek lemértem az üres tömegét, valamint a minta hozzáadása után az együttes tömegüket. A mintákat tartalmazó mikrocsoveket jégágyra helyeztem, az enzimikus működések inaktiválásának céljából addig, amíg az emésztésszimuláció véget nem ért.

## 3.6. Glükóz tartalom meghatározása

A glükóz tartalom vizsgálatához Thermo Electron Corporation spektrofotométerét használtam, melyhez a mintákat az alábbi módon, kétféleképpen készítettem elő.

### 3.6.1. Vizes közegű minták

A korábban jégágyra helyezett mikrocsoveket centrifugába helyeztem, 10 percre 4 °C-on, 10000 r/min fordulatszámom. Átpipettáztam 100  $\mu\text{L}$ -t egy másik mikrocsovebe, majd hígítottam a felülúszót 1900  $\mu\text{L}$  desztillált vízzel, hogy a koncentráció a spektrofotométer mérési tartományába essen. A hígított mintából kipipettáztam 25-25  $\mu\text{L}$ -t két különböző mikrocsovebe, majd az egyikhez 25  $\mu\text{L}$  vizet adtam, a másikhoz 25  $\mu\text{L}$  AMG (amilo-glükozidáz enzim) oldatot, az AMG-oldat célja a maradék oligoszacharidok glükózzá hidrolizálása.

Ezt követően 30 percen át 50°C-os vízfürdőbe helyeztem a mintákat. A vízfürdő lejárta után hozzáadtam a mintákhoz 750-750  $\mu\text{L}$  GOPOD (glükóz-oxidáz-peroxidáz reagens) oldatot, a GOPOD-oldat reakcióba lép a mintában lévő glükózzal piros színt képezve vele, mellyel lehetővé teszi a spektrofotométerrel való mérést, majd újra a vízfürdőbe helyeztem 20 percre.

A kalibrációhoz 3-3 kontroll mintát készítettem el ugyanazon a módon, azonban itt 25 µL minta helyett 25 µL Megazyme D-glükóz standard oldat adtam hozzá.

### 3.6.2. Etanolos kicsapást követő mintakezelés

A levett 2 mL-es emésztményekből átpipettáztam 400 µL-t egy másik mikrosőbe, majd hozzáadtam 1600 µL 99,8%-os etanolt, melyek célja az oligomerek kicsapása (Sen et al., 2011), elegyítettem majd újra centrifugába helyeztem őket és megismételtem az előző programot, hogy az etanollal kicsapott szénhidrátokat kiülepedjenek, így lehetővé téve az elválasztásukat. A centrifugázást követően a mintaelőkészítés lépései megegyeznek az 1. számú mintaelőkészítéssel. A program lejártával, kipipetáztam 100 µL-t egy újabb mikrosőbe, majd hozzáadtam 1900 µL vizet. A hígított mintából kipipettáztam 25-25 µL-t két különböző mikrosőbe, majd az egyikhez 25 µL-t desztillált vizet adtam a másikhoz 25 µL AMG-oldatot. Ezt követően 30 percen át 50°C-os vízfürdőbe helyeztem a mintákat. A vízfürdő lejárta után hozzáadtam a mintákhoz 750-750 µL GOPOD-oldatot, majd újra a termosztátba helyeztem 20 percre.

### 3.7 Glikémiás index meghatározása

A spektrofotometriás módszer által kapott abszorbancia értékekből kiszámolt glükóz tartalomból, készítettem egy görbét az eltelt idő és a mért glükóz-koncentráció függvényében, majd kiszámoltam a görbe alatti területet (AUC) a 2. egyenlet alapján.

$$AUC = \frac{(C_n + C_{n+1})}{2} * (t_{n+1} - t_n)$$

2. egyenlet: az idő függvényében mért glükózkoncentrációk görbe alatti területének meghatározásához használt képlet, ahol; C – az adott időpontban mért glükóz koncentráció;  
t - idő

A kapott görbe alatti területeket hasonlítottam egymáshoz a különbözően kezelt minták esetén egy már korábbi kutatáshoz hasonló módon (Fernandes et al., 2020). A kenyér glikémiás indexét 71-nek tekintettem abban az esetben, amikor nem adtam hozzá se meggylevet, se meggylé kontrollt, majd a görbe alatti területet mind a két kezelés esetén meghatározva kiszámoltam a 3. egyenlet alapján a meggylé, illetve meggylé kontroll mintával kezelt kenyér glikémiás indexét:

$$GI_s = \frac{71}{AUC_r} * AUC_s$$

3. egyenlet: a különböző kezelések alá vetett kenyér minták glikémiás indexének meghatározásához használt képlet, ahol;  $GI_s$  – a kezelt minta glikémiás indexe; 71 – kenyér glikémiás indexe (állandó);  $AUC_r$  kenyér minta görbe alatti területe;  $AUC_s$  meggylé vagy meggylé kontrollal kezelt minta görbe alatti területe

### 3.8. Statisztikai értékelés

A kivonatok szénhidrát tartalmát, illetve az emészthetőségi teszt utáni szénhidrát emészthetőségüket Microsoft Excel szoftver segítségével Student-féle t-próba segítségével hasonlítottam össze,  $p < 0,05$  értéket véve szignifikancia szintnek. A statisztikai próba végrehajtása előtt szórás homogenitás tesztet hajtottam végre.

## 4. Eredmények, értékelésük

A kísérleteim célja a fehér kenyér glikémiás tulajdonságnak feltérképezéséhez alkalmas emésztésszimulációs módszer kialakítása, és több paraméterének optimalizálása volt. Majd a fehér kenyér glükóz felszabadulási profilját referenciaként használva megvizsgáltam egy Magyarországon közkedvelt és őshonos, nagy polifenol tartalmú gyümölcs – Érdi bőtermő meggy, meggylé formájában – hatását a kenyér szénhidrát emészthetőségére.

Mivel a meggy egy erősen savas gyümölcs, és ismert, hogy a szénhidrát emésztést meghatározó alfa-amiláz enzim savas élelmiszerek fogyasztásakor hamarabb inaktiválódik, így ennek a savasságnak a hatását is szerettem volna megismerni. Ezért az emésztésszimulációt egy – a meggylé sav-, és cukortartalmát szimuláló – kontroll-oldattal is végrehajtottam.

Az alábbi fejezetben bemutatom, az emésztésszimuláció optimalizálásához használt módszerek, mint a rágási protokoll, nyálfelvétel vagy a gyomri szakasz pH optimalizálásának eredményeit, illetve, az emésztésszimuláció során vett sima, valamint a kezelt minták spektrofotometriával megmért glükóztartalmát. Ezentúl a kapott eredmények alapján számolt glikémiás indexet is bemutatom.

### 4.1 Emésztésszimuláció optimalizálása

A mérések megkezdése előtt az emésztésszimulációs módszer két szakaszának – száji szakasz és gyomri szakasz – optimalizálása volt a feladat. Először az *in vivo* száji szakasz során, a rágás paramétereinek és a nyállal való keveredés mértékének meghatározását végeztem el. Majd a szemi-dinamikus gyomri szakasz pH kontrolljának beállítását hajtottam végre.

#### 4.1.1. *In vivo* száji szakasz

A vizsgálat fő célja az *in vivo* száji szakasz két paraméterének meghatározása volt; i) a kenyér minta aprításához szükséges rágások száma; ii) a kenyér minta aprításához szükséges rágási idő. A kísérlet alapjául Chen és munkatársai (2022) által elvégzett hasonló kísérlet szolgált. A két paraméter vizsgálata önkéntesek bevonásával zajlott. A kísérletet 3 fő hajtotta végre (életkor: 24-29 év; nem: 2 fő férfi, 1 fő nő).

A kísérlet során minden fő részére kimértem háromszor 1,65 g kenyeret analitikai mérlegen, majd ezeket Petri-csészéken helyeztem el. A kenyér minta szájba vétele után a rágás szám és

rágási idő meghatározásához rögzítettem az első rágástól a nyelési inger eléréséig végrehajtott rágások számát, illetve a folyamat során eltelt időt.

Az eredmények alapján számolt átlagos rágási szám  $29 \pm 9$  volt, és a rágási idő pedig  $23 \pm 9$  s.

Az így létrehozott rágási protokoll szolgált a későbbi emésztés modellezés során az *in vivo* száji szakasz végrehajtásához referenciaként, vagyis minden mérés során a kenyér minta rágását ezen paraméterek alapján végeztem.

#### 4.1.2. Nyálfelvétel

A következő vizsgált paraméter annak meghatározása volt, hogy a mérés során a korábban megállapított rágási protokoll végrehajtása során, a kenyér átlagosan mennyi nyálat vesz fel. A nyálfelvétel számolásához meghatároztam a megrágott minta nedvességtartalmát és a vizsgált kenyér minta nedvességtartalmát, majd a 1. egyenlet alapján kiszámoltam a mintában jelenlévő nyáltartalmat, mely átlagosan 26,9% volt.

Emellett az emésztésszimulációk során folyamatosan monitoroztam a kenyér minta rágás utáni tömegnövekedését, amiből a rágás során lezajlott hidratálódásra, valamint a rágás ismételhetőségére lehet következtetni. Ezen eredmények alapján a kenyér rágás utáni tömegnövekedése  $70 \pm 28\%$  (RSD=40%) volt. Az eredmények alapján elmondható, hogy az *in vivo* száji szakasz végrehajtása ismételhető, azonban a rágások közti különbségek miatt eleve nagyobb hibával terhelt. A rágás során lezajló hidratálódás mértéke, illetve a nyálfelvétel hatással lehet az emésztés során lezajló hidrolízis mértékére is (Chen et al., 2023), így ennek monitorozása fontos az emésztésszimuláció során.

#### 4.1.3. Szemi-dinamikus gyomri szakasz pH optimalizálása

A gyomor savas környezete miatt, az emésztés során a pH érték jelentősen lecsökken ebben a szakaszban. A pH érték csökkenése azonban ez nem ugrásszerűen történik, hanem az emésztés során – az elfogyasztott élelmiszer kémhatásának függvényében – folyamatosan csökken, és átlagosan 90 perc elteltével éri el a 2-es pH értéket (Freitas & Le Feunteun, 2019). Annak érdekében, hogy ennek a szakasznak a kémhatásra vonatkozó dinamizmusát realiztikusabban lehessen utánozni, a vizsgált minta összetételek alkalmazásával előzetesen meghatároztam a folyamatos pH csökkentéshez szükséges 1 M HCl-oldat mennyiségét.

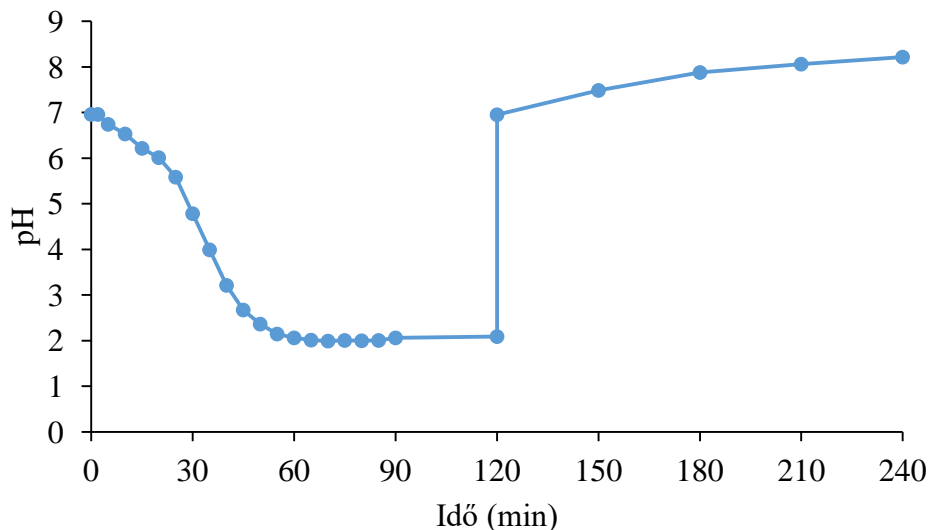
A mérés először során azt vizsgáltam, hogy milyen mennyiségű sósav-oldatra van szükség ahhoz, hogy a pH érték 2-re csökkenjen. Az előző méréshez megegyezően itt is a saját rágási protokoll alapján végrehajtottam az *in vivo* száji szakaszt, majd hozzáadtam a gyomorban fellépő körülményeket szimuláló oldatokat, és addig adagoltam hozzá 1 M koncentrációjú



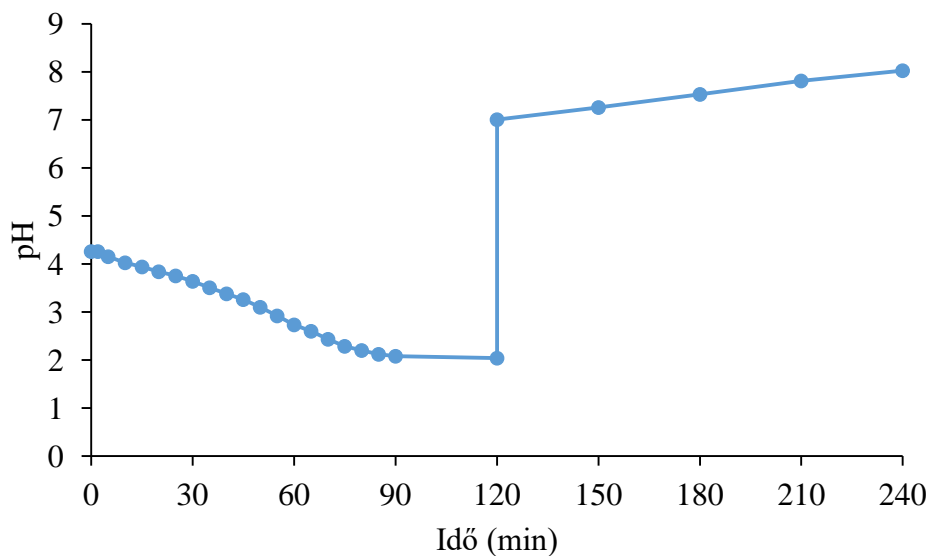
sósav-oldatot, amíg a pH értéke beállt 2-re. Az így kapott eredmény (360  $\mu$ L), szolgált a szemidinamikus teszt alapjául.

Másodjára teszteltem, hogy az előzőleg megmért sósav-oldat mennyiséget fokozatosan adagolva hogyan csökken a kémhatás. Ehhez az összes fogyásból kiszámoltam, hogy 5 percenként 20  $\mu$ L sósavat kell hozzáadnom, hogy a 90. percre elérje a megfelelő pH értéket. A meghatározott adagolási profillal is végrehajtottam ez emésztésszimulációt, mely mérés során folyamatosan rögzítettem a kémhatást az idő függvényében.

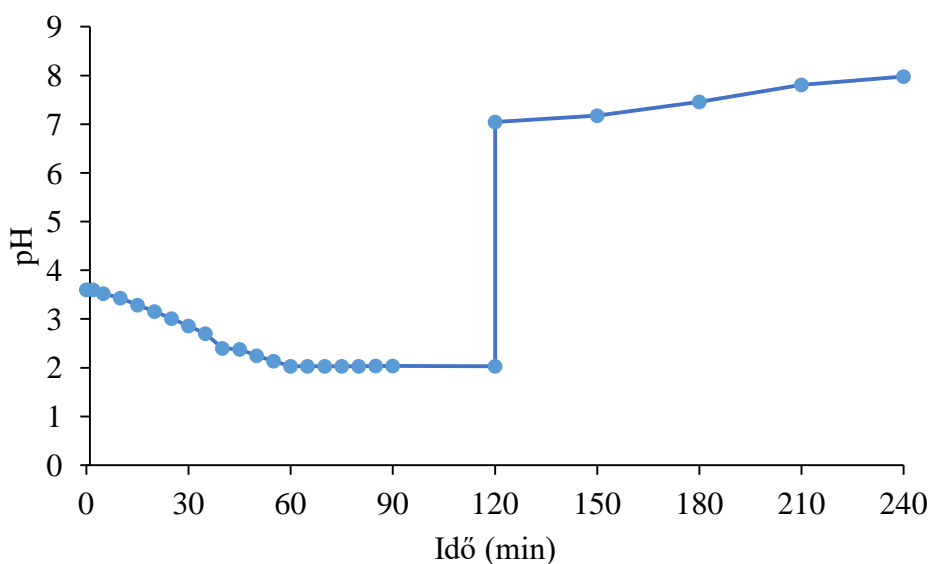
A következő ábrákon a mérések során rögzített a pH érték átlagos változása látható, a vizsgált kenyér minta emésztése során (1. ábra), a kenyér minta meggylével való együttemésztése során (2. ábra), és a kenyér minta kontroll-oldattal való együttemésztése során (3. ábra).



3. ábra Kenyér emésztmény pH érték változása



4. ábra Kenyér és meggylé emésztmény pH értékének változása



5. ábra Kenyér és kontroll emésztmények pH változása

Az ábrákon láthatjuk, hogy a meggylé és a kontroll esetében a pH változása kisebb értékről (4,26 és 3,59) indul, melyet a meggylé és az ez alapján létrehozott kontroll-oldat savas jellege okoz. A kenyér minta emésztése során – ahol csak vizet adtunk a mintához – a pH változás nagyobb értékről indul (6,98). A mérések alapján mind a három típusú minta átlagosan az emésztésszimuláció 60. percre érte el a 2-es pH értéket.

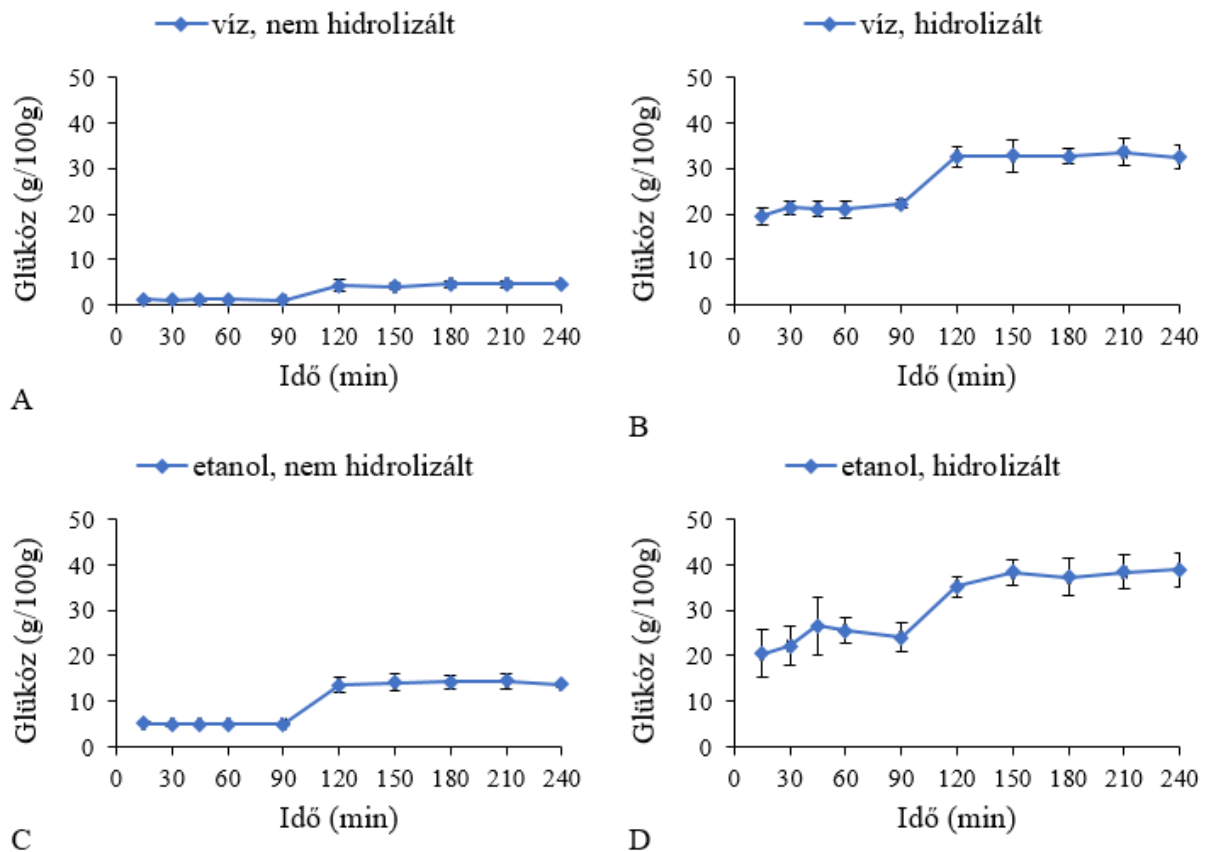
Az így kialakított szemi-dinamikus gyomri protokoll – a pH folyamatos monitorozásával – alkalmas ennek a szakasznak a kontrollált és ismételhető végrehajtására.

## 4.2. Glükóz felszabadulás

A fehér kenyér minta emésztésszimulációját három kísérleti beállítás szerint hajtottam végre; i) kenyér minta önálló emésztése, eredendő glükóz felszabadulás meghatározására; ii) kenyér minta együttemésztése meggylével, mely során a meggylé hatásának vizsgálata volt a cél a kenyér glikémiás sajátságaira; iii) kenyér minta együtt emésztése a kontroll-oldattal, mely a meggylé savtartalmával egyenértékű savtartalma miatt, a savasság glükóz felszabadulásra gyakorolt hatásának vizsgálatát teszi lehetővé. Minden kísérleti beállítást 5-5 párhuzamos méréssel végeztem, majd vizsgáltam meg a glükóz tartalmát a már korábban ismertetett mintaelőkészítéssel és spektrofotométer segítségével. Az abszorbancia adatokból glükóz standarddal való kalibráció alapján kiszámoltam a felszabadult glükóz koncentrációját, melyet g glükóz/100 g kenyér termék egységben adtam meg. Azon minták esetében, ahol meggylevet vagy a meggylé kontroll-oldatot adagoltam az eredményeket korrigáltam a hozzáadott folyadékok glükóz tartalmával.

### 4.2.1 Fehér kenyér emészthetősége

A fehér kenyér minta glükóz felszabadulását, abban az esetben, amikor semmilyen kezelést nem kapott az emésztés elkezdése előtt a 6. ábrán foglaltam össze.



6. ábra Kenyér minta emésztés során történő glükóz felszabadulásának monitorozása, „A” diagrammon vizes, nem hidrolizált minta, „B” diagrammon a vizes, hidrolizált minta, „C” diagrammon etanolos, nem hidrolizált minta, „D” diagrammon az etanolos, hidrolizált minta

A 6. ábra a méréseim során vizsgált négyféle előkészítési módszerrel mért eredményeket mutatja be. A 6A és 6C részek az emésztés során vett minták szabad glükóz tartalmát, míg a 6B és 6D részek a hidrolízis után nyer összes glükóz tartalmát mutatják. Az etanolos kicsapással előkészített minták abban különböznek a vizes mintáktól, hogy az etanol hozzáadásával az oligomernél hosszabb maradvány szénhidrátokat eltávolíthatjuk az oldott részből, így szelektíven izolálható az emészthető szénhidrát frakció, mely csak a kefeszegély enzimek segítségével tovább bontható szacharidokat tartalmazza.

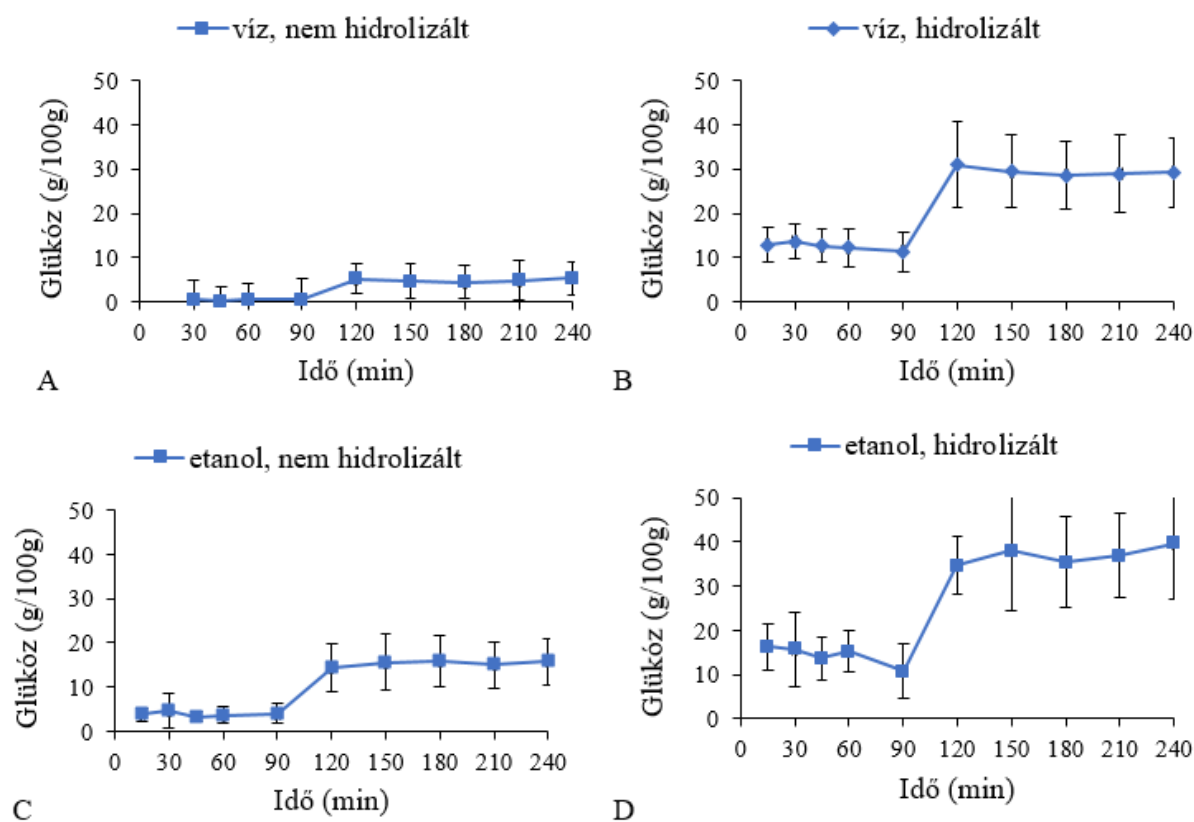
Az etanolos, hidrolizált minta esetében láthattam a legnagyobb átlagos glükóz tartalmat (40 g/100 g), a vizes, hidrolizált minta esetében hasonlóan nagy értéket kaptam (32 g/100 g), míg az etanolos nem hidrolizált mintáknál (15 g/100 g), és a vizes nem hidrolizált mintáknál (5 g/100g) sokkal kisebb a mért érték.

Mivel a mintaelőkészítés alapján arra számítottam, hogy a vizes előkészítés után mért eredmények nagyobbak lesznek, mint az etanolos előkészítés után mért eredmények – hiszen a szénhidrátok egy részét eltávolítottam az oldatból – így az eredmények arra utalnak, hogy az

oligomerek jelenléte hátráltathatja, vagy az AMG-kezelés során lezajló hidrolízist, vagy a GODOP-reagens hozzáadása során a származékképzési reakciót.

#### 4.2.2 Meggylével kezelt fehér kenyér glükóz profilja

A 7. ábrán mutatja be azt az esetet, amikor a rágási protokollt követően, a bolushoz 3,35 ml meggylevet adtam, abból a célból, hogy megvizsgáljam, milyen hatást fejt ki az alfa-amiláz enzimekre a meggylé jelenléte. Az előző ábrához hasonlóan a 7A és 7C részek az emésztés során vett minták szabad glükóz tartalmát, míg a 7B és 7D részek a hidrolízis után nyert összes glükóz tartalmat mutatják.

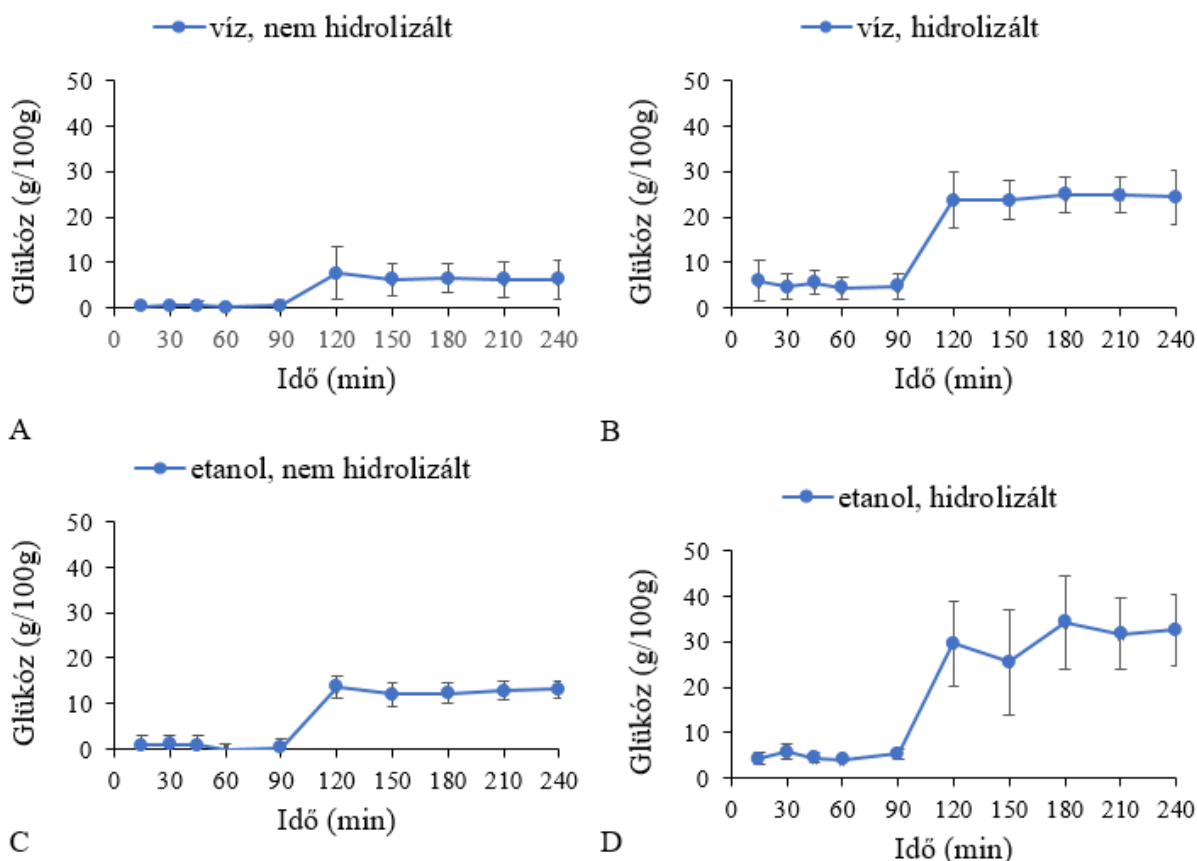


7. ábra A kenyér és meggylével kevert minta emésztés során történő glükóz felszabadulásának monitorozása, „A” diagrammon vizes, nem hidrolizált minta, „B” diagrammon a vizes, hidrolizált minta, „C” diagrammon etanolos, nem hidrolizált minta, „D” diagrammon az etanolos, hidrolizált minta

Az előző ábrához viszonyítva a mért eredmények aránya egymáshoz ugyanazt a tendenciát követi, vagyis hogy az etanolos, hidrolizált mintában mértem a legnagyobb glükóz koncentrációt (39 g/100 g), a vizes, hidrolizált mintában hasonlóan nagy értéket mértem (29 g/100 g), míg ennél az etanolos, nem hidrolizált mintában ennél kisebbet (16 g/100 g). A vizes, nem hidrolizált minta esetében volt mérhető itt is a legkisebb koncentráció (5 g/100 g). A meggylé hozzáadása nem változtatta meg jelentősen az összes felszabadult szénhidrát mennyiségét (etanolos, hidrolizált eredmények alapján:  $p=0,913$ ).

#### 4.2.3 Meggylé kontroll-oldattal kezelt fehér kenyér emészthetősége

A harmadik együttemésztés eredménye, ahol a rágási protokoll után, meggylé kontroll-oldatot adtam a fehér kenyérhez, a 8. ábrán látható. Ezzel a kísérlettel a meggylé savas jellegéből adódó amilázgátló hatásából következő glükóz felszabadulás csökkenését vizsgáltuk.



8. ábra A kenyér és kontrollal kevert minta emésztés során történő glükóz felszabadulásának monitorozása, „A” diagrammon vizes, nem hidrolizált minta, „B” diagrammon a vizes, hidrolizált minta, „C” diagrammon etanolos, nem hidrolizált minta, „D” diagrammon az etanolos, hidrolizált minta

A 8A és 8C részek az emésztés során vett minták szabad glükóz tartalmát, míg a 8B és 8D részek a hidrolízis után nyer, összes glükóz tartalmat mutatják.

Az eredmények alapján ebben az esetben is igaz, hogy etanolos, hidrolizált mintában volt mérhető a legnagyobb felszabadult glükóz (32 g/100 g), ezt követte a vizes, hidrolizált mintából mért érték (24 g/100 g). Az etanolos, nem hidrolizált mintában azonban jóval több szabadul fel (13 g/100 g) mint a vizes, nem hidrolizált mintában (6 g/100 g).

A kontroll-oldat hozzáadása után mért összes szénhidrát emészthetőség csökkenést mutat, mind a fehér kenyérhez ( $p=0,167$ ), mind a kenyér és meggylé együttemésztése során mért értékekhez ( $p=0,262$ ) képest, azonban a számolt  $p$  értékek alapján ez nem jelent szignifikáns különbséget.

A 6. ábra értékelése után tett megjegyzés, mely szerint: a mintaelőkészítés alapján arra számítottunk, hogy a vizes előkészítés után mért eredmények nagyobbak lesznek, mint az etanolos előkészítés után mért eredmények; minden emésztésszimuláció után mért eredmények esetén megfigyelhető volt. Mivel az etanol hozzáadásával végzett szelektív izolációt több irodalmi forrás is alkalmazza az emészthető szénhidrát frakció vizsgálatára (Dersjant-Li & Peisker, 2010; Sen et al., 2011), így a továbbiakban az etanolos mintaelőkészítés után mért eredményeket vettem relevánsnak és ezeket az értékeket hasonlítottam össze.

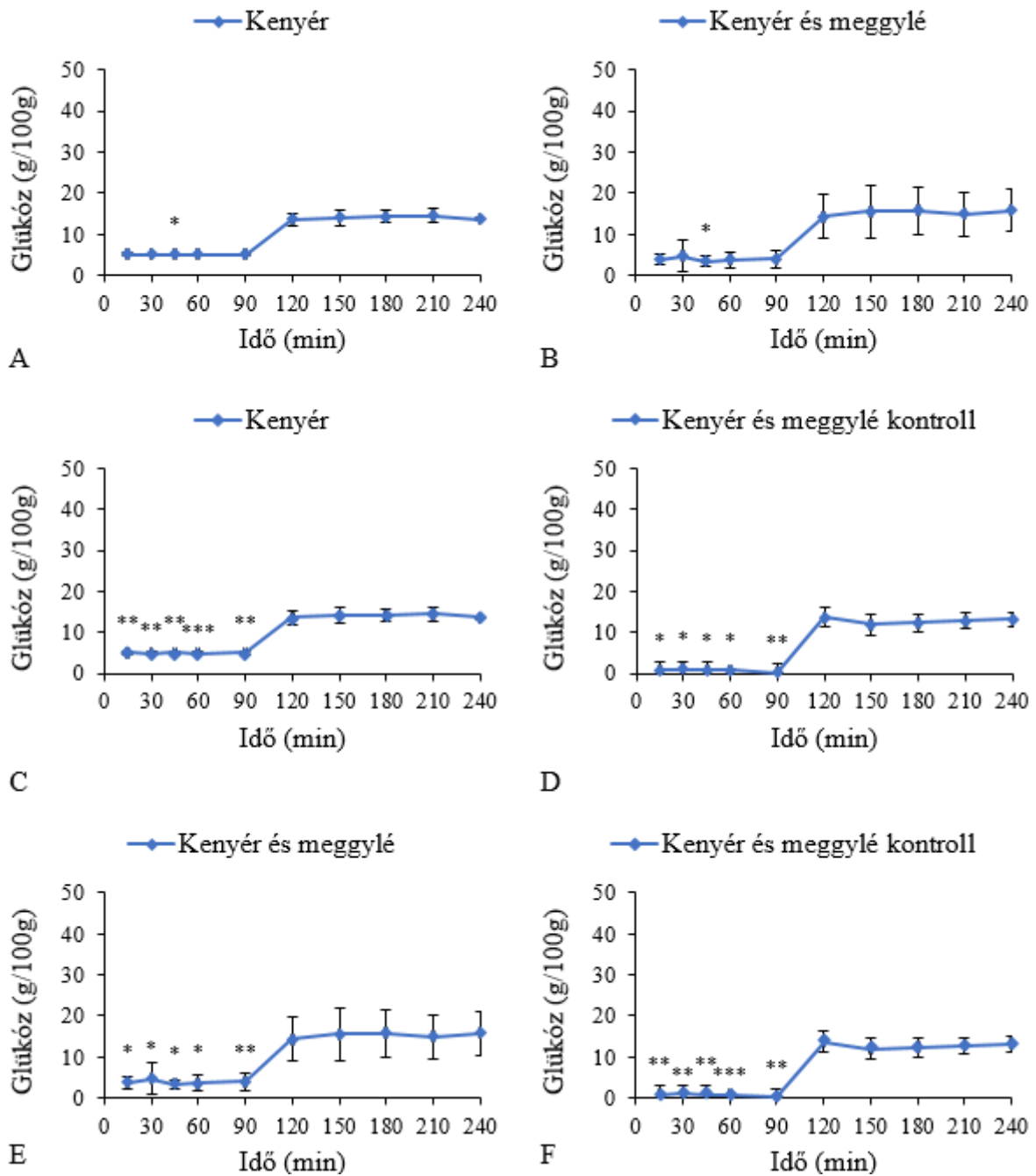
### 4.3. Glükóz felszabadulás összehasonlítása

A mérés során kapott glükóztartalmak alapján, az etanollal előkészített minták reprezentálják a vizsgált tulajdonságot, vagyis az emésztés során keletkezett oligomernél kisebb szénhidrátok mennyiségét, így összehasonlítottam a fehér kenyér, valamint a két különböző kezelés utáni kenyér minták glükóz felszabadulását a hidrolizált (összes emészthető szénhidrát), illetve nem hidrolizált (emészthető frakció szabad glükóz tartalma) esetben.

#### 4.3.1. Emészthető frakció szabad glükóz tartalma

Az alábbi fejezetben, összehasonlítom azokat a koncentrációkat, amelyeknél az etanolos mintaelőkészítés során nem adtam AMG-oldatot a mintákhoz, így a benne lévő összes szénhidrát nem lett elhidrolizálva.

A 9. ábrán az etanolos izoláció után hidrolízis nélkül mért szabad glükóz tartalom látható, a fehér kenyér (A, C), meggylével emésztett fehér kenyér (B, E) és kontroll-oldattal emésztett (D, E) emésztésszimulációja során vett minták esetén.



9. ábra Az etanolos minta előkészítés során mért glükóz felszabadulás, abban az esetben, amikor a mintában lévő szénhidrátokat nem hidrolizáltam el, "A" és "B" ábrán hasonlítom össze a sima kenyér és meggylével való kezelés eredményét. "C" és "D" ábrán hasonlítom össze a sima kenyér és meggylé kontrollal való kezelés eredményét. "E" és "F" ábrán hasonlítom össze a meggylé és meggylé kontrollal való kezelés eredményét. Az eredményeket Student-féle t próba segítségével hasonlítottam össze, melynek jelölése a következőképpen történt:  $p > 0,05$  esetén nincs jelölés;  $p < 0,05$  esetén \*;  $p < 0,01$  esetén \*\*;  $p < 0,001$  esetén \*\*\*.

Az 9. ábra A és B részén látható, hogy a fehér kenyér emésztése során mért szabad glükóz felszabadulása és meggylével kezelt minta emésztése során mért szabad glükóz felszabadulása egyetlen pontban (45 min) különbözik egymástól ( $p=0,030$ ), azonban ettől eltekintve a meggylé nem volt képes megváltoztatni a fehér kenyér emészthető szabad glükóz tartalmát.

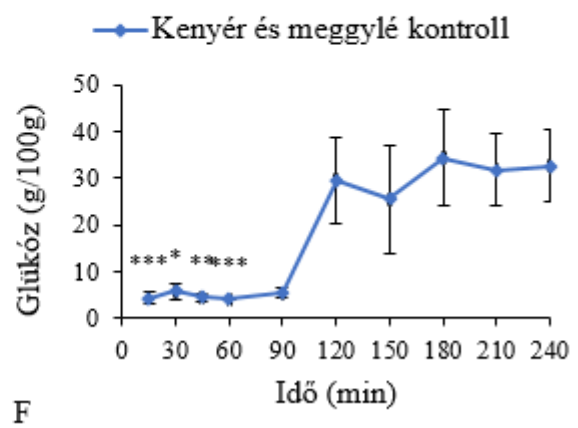
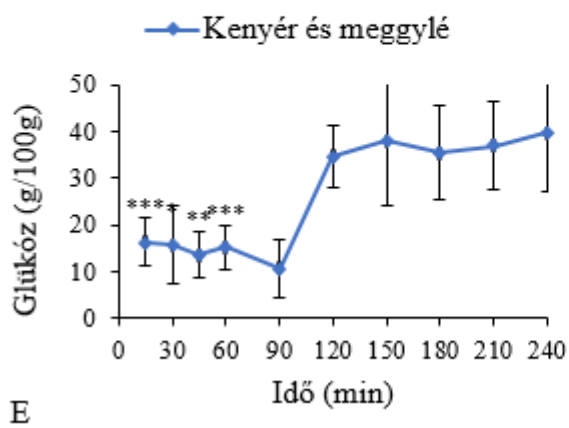
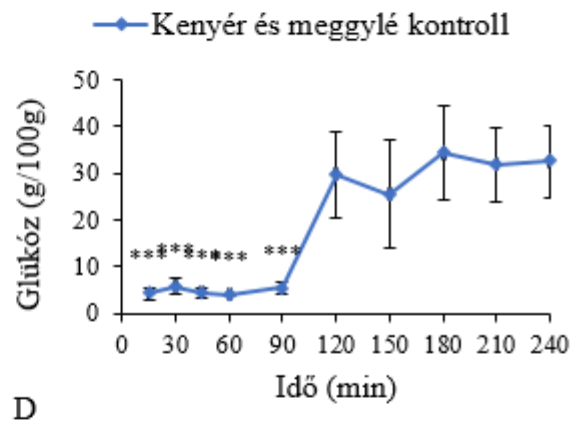
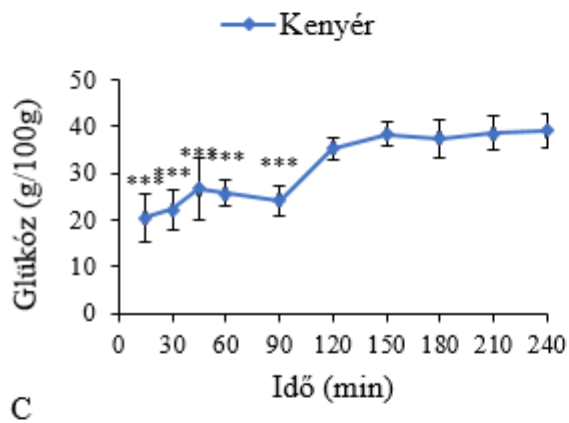
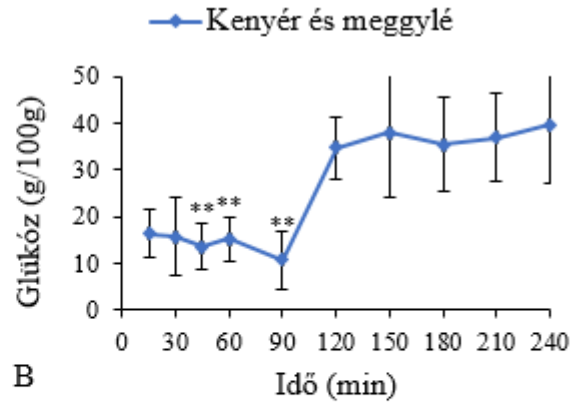
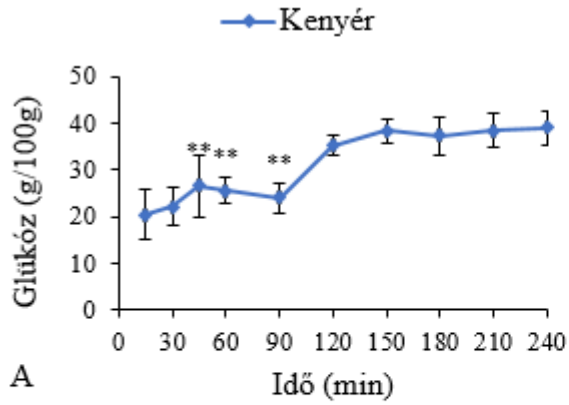


Az 9. ábra C és D része a fehér kenyér és a kontroll-oldattal kezelt kenyér szabad glükóz felszabadulását hasonlítja össze. Ebben az esetben már a gyomri szakasz minden pontjában (15-90 min) eltérő szabad glükóz tartalom volt mérhető ( $p < 0,01$ ). Ez egyértelműen a kontroll-oldat savtartalmának hatását mutatja be, hiszen az eredendően savas minta hatására az a nyálból származó alfa-amiláz enzim feltehetően a gyomri emésztés kezdeti szakaszában (már 15 percnél) veszített az aktivitásából, ami jelentősen csökkenteni tudta a glükóz felszabadulást. Végül a 9. ábra E és F része a meggylé és a kontroll-oldat hatását hasonlítja össze. Az ábra adatai mutatják, hogy a kontroll-oldat hozzáadása még a meggylé hatásánál is jobban képes volt csökkenteni a szabad glükóz felszabadulást, a gyomri szakasz teljes időtartama alatt (15-90 min,  $p < 0,05$ ). Ez utalhat arra, hogy a meggylé egyéb komponensei képesek némileg csökkenteni a savasság hatását, mely ily módon a glükóz felszabadulást segíti elő.

#### 4.3.1. Összes emészthető szénhidrát mennyiség

Az alábbi részben, az etanolos mintaelőkészítés során AMG-oldattal kezelt minták glükóz-tartalmát mutatom be. Ezekben a mintákban a jelenlévő oligomerek monomerekké (glükóz) hidrolizálva vannak jelen, így az összes emészthető szénhidrát mennyiség felszabadulása nyomon követhető.

A mért eredmények a 10. ábrán láthatók.



10. ábra Az etanolos minta előkészítés során mért glükóz felszabadulás, abban az esetben, amikor a mintában lévő szénhidrátokat elhidrolizáltam, "A" és "B" ábrán hasonlítom össze a sima kenyér és meggylével való kezelés eredményét. "C" és "D" ábrán hasonlítom össze a sima kenyér és meggylé kontrollal való kezelés eredményét. "E" és "F" ábrán hasonlítom össze a meggylé és meggylé kontrollal való kezelés eredményét. Az eredményeket Student-féle t próba segítségével hasonlítottam össze, melynek jelölése a következőképpen történt:  $p > 0,05$  esetén nincs jelölés;  $p < 0,05$  esetén \*;  $p < 0,01$  esetén \*\*;  $p < 0,001$  esetén \*\*\*.

Az 10. ábra A és B részén látható, hogy a fehér kenyér emésztése során mért összes glükóz felszabadulása és meggylével kezelt minta emésztése során mért összes glükóz felszabadulása három pontban (45, 60, 90 min) is különbözik egymástól ( $p=0,007$ ;  $p=0,005$ ;  $p=0,004$ ) azonban ettől eltekintve a meggylé nem volt képes megváltoztatni a fehér kenyér emészthető szabad glükóz tartalmát.

Az 10. ábra C és D része a fehér kenyér és a kontroll-oldattal kezelt kenyér összes glükóz felszabadulását hasonlítja össze. Az előző ábrához hasonló esetben itt is a gyomri szakasz minden pontjában (15-90 min) eltérő glükóz tartalom volt mérhető ( $p<0,001$ ), amely szintén a kontroll oldat savtartalmának tudható be.

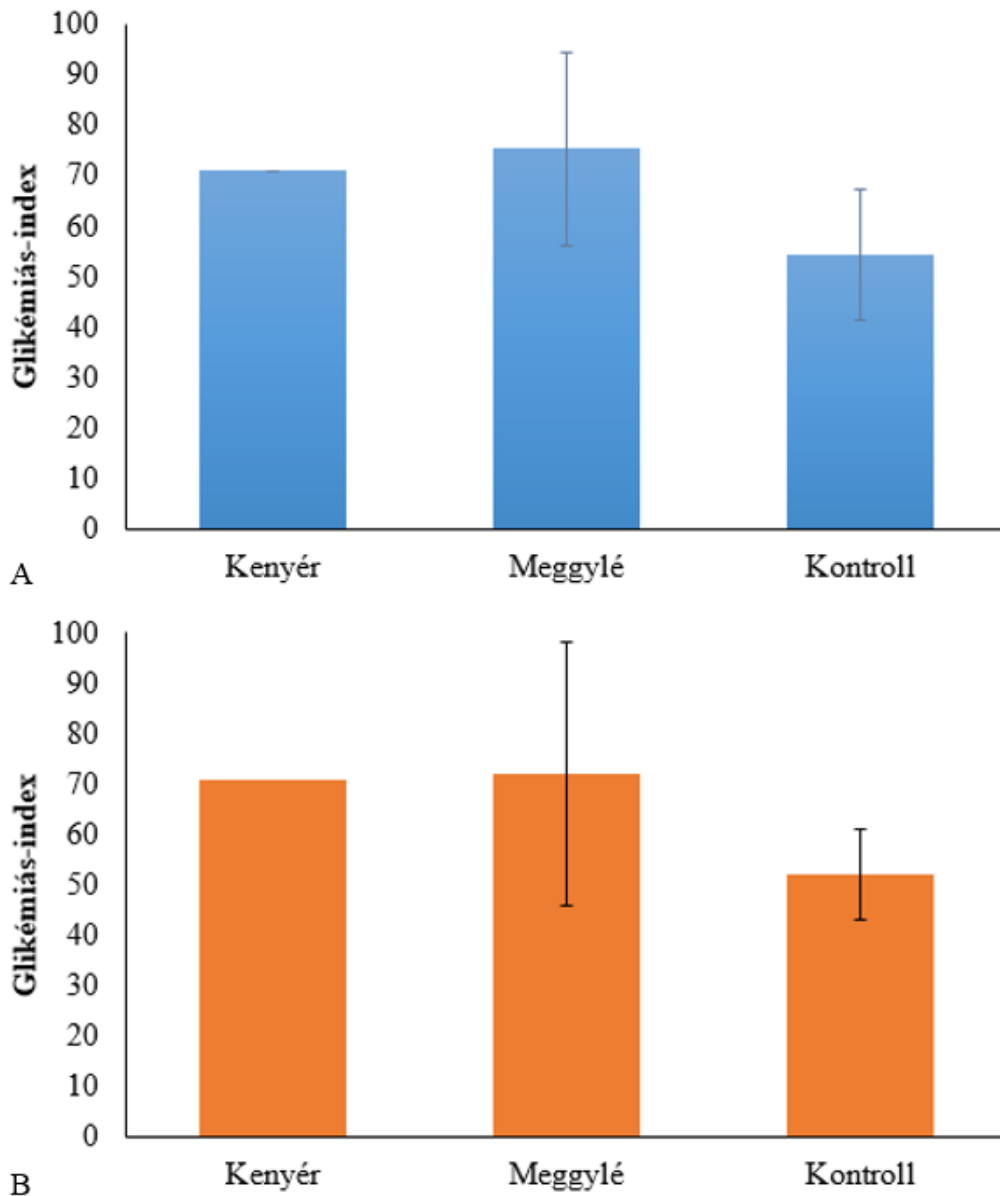
A 10. ábra E és F része a meggylé és a kontroll-oldat hatását hasonlítja össze. Az ábrán látható, hogy a kontroll-oldat hozzáadása még a meggylé hatásánál is jobban képes volt csökkenteni a glükóz felszabadulást, a gyomri szakasz teljes időtartama alatt (15-90 min,  $p<0,001$ ).

Az eredmények alapján elmondható, hogy a meggylé által kiváltott glükóz felszabadulást csökkentő hatás főként a savas karakteréből adódik. Ezen a hatáson azonban a meggylében jelenlévő egyéb molekulák csökkentenek, vagyis a savasság hatását elfedhetik az emésztés gyomri szakasza alatt.

#### 4.4 Glikémiás index meghatározása

A kapott glükózkoncentrációkból – szabad glükóz és összes glükóz felszabadulás – ábrázolt diagrammok segítségével kiszámoltam mind a három kísérleti beállítás esetén a görbe alatti területet (AUC, 2. egyenlet). A kapott AUC-ból, ahhoz viszonyítva, hogy a kenyér glikémiás indexe 71, aránypár használatával megállapítottam a meggylével, valamint meggylé kontrollal kezelt kenyerek glikémiás indexét (3. egyenlet).

A számolt glikémiás indexeket a 11. ábra mutatja be.



11. ábra A különbözően kezelt kenyerek glikémiás indexének összehasonlítása, amely esetben a mintában lévő szénhidrátokat elhidrolizáltam. Az A ábrán látható amikor az emészhető szénhidrátok elhidrolizálásra kerültek, B ábrán látható amikor nem adtam hozzá semmit, hogy a szénhidrátokat elhidrolizáljam.

A 11. ábra A részén feltüntetett szabad glükóz felszabadulás görbéje szerint számolt (etanolos, nem hidrolizált minták) glikémiás index a meggylével kezelt kenyér esetében nagyobb ( $72 \pm 26$ ), a meggylé kontroll-oldattal kezelt kenyér esetében ( $52 \pm 9$ ) kisebb érték volt, mint 71.

Ehhez hasonlóan a 11. ábra B részén megjelenített – az etanolos, hidrolizált minták görbék alapján számolt – glikémiás index a meggylével kezelt kenyér esetében szintén nagyobb ( $75 \pm 19$ ), a meggylé kontrollal kezelt kenyér esetében ( $54 \pm 13$ ) szintén kisebb érték volt, mint 71.

A meggylével kezelés után mért eredményekből számolt GI-k egyik előkészítési mód szerint sem mutattak különbséget a fehér kenyér referencia GI-hez képest. A szabad glükóz felszabadulásból számolva  $p=0,622$ , míg az összes glükóz felszabadulásból számolva  $p=0,923$ , a t próba alapján.

Ezzel ellentétben a kontroll-oldattal kezelt minta esetében a szabad glükóz felszabadulásból számolva ( $p=0,002$ ) és az összes glükóz felszabadulásból számolva ( $p<0,001$ ) is szignifikáns különbséget lehetett kimutatni a fehér kenyér glikémiás indexében. Így ennek a kezelésnek a GI-csökkentő hatása valószínűleg tekinthető.

Az eredmények alapján mindkét analitikai módszerrel nyert eredmények alkalmasak a kezelések hatásának glikémiás értékre gyakorolt hatásának kiszámítására.

## 5. Következtetések és javaslatok

Az emésztésszimuláció optimalizálása során először az *in vivo* száji szakaszhoz szükséges rágás paramétereket határoztam meg, valamint a rágási utáni tömegnövekedést. A rágási paraméterek meghatározása során észrevettem, hogy személyenként a rágási szokások nagyon eltérőek, így ezeknek a paramétereknek a meghatározása és egységesítése kulcsfontosságú a mérés szempontjából. A minták nyálfelvételének monitorozásával az eredmények alapján elmondható, hogy az *in vivo* száji szakasz végrehajtása ismételhető.

A gyomri szakasz pH optimalizálása során megállapítottam, hogy mennyi sósavat szükséges adagolni 5 percenként, ahhoz hogy a 90. percre elérjük az optimális pH értéket. A pH változás folyamatos monitorozásával észrevettem, hogy a sima kenyér minta magasabb pH értékről indul, mint abban az esetben mikor meggylével, vagy meggylé kontroll-oldattal kezeltem, ez a kezeléshez használt anyagok savas jellegéből következett. Azonban a gyomri szakaszban mindhárom esetben ugyanabban az időintervallumban állt be a pH a kívánt értékre, átlagosan a 60. percben. A megfigyelések alapján a gyomri szakasz szemi-dinamikus megoldása jól kontrollálható és ismételhető.

A glükóz felszabadulás vizsgálatakor minden mérés esetén megfigyelhető volt, hogy az etanolos kicsapás után (emészthető frakció szelektív izolálása) mért eredmények kihatolása nagyobb volt, mint az eredendően nagyobbra várt vizes minták (összes jelenlévő szénhidrát az emésztményben) esetén. Ebből arra következtettem, hogy az etanolos kicsapás hatására a mérést esetlegesen zavaró tényezők eltávolíthatók az oldatból, így releváns képet kaphatunk a glükóz felszabadulásról.

A különbözően kezelt etanolos minták glükóz felszabadulását összehasonlítottam a hidrolizált minták (9. ábra), és a nem hidrolizált minták (10. ábra) esetben is. A glükóz felszabadulás görbéket összehasonlítva elmondható, hogy a két vizsgált kezelésnek a gyomri szakaszban lezajló szénhidrát emésztésre volt hatása, ami a nyálban jelenlévő alfa-amiláz enzim gátlására utal. A meggylével és a meggylé kontroll-oldattal végzett együttemésztések során mért eredmények összehasonlításából az is kiderült, hogy a hatást feltehetőleg a minták savassága okozza, melyen a jelenlévő egyéb molekulák (polifenolok, rostok) némileg enyhítenek.

A glikémiás index (GI) meghatározásból látható, hogy a meggylével való kezelés nem módosította a fehér kenyér GI-ét, azonban a kontroll-oldat hozzáadása igen (11. ábra). Ez a következtetés, abban az esetben is igaznak bizonyult, amikor a mintában lévő emészthető szénhidrátok elhidrolizálásra kerültek, és abban az esetben is, amikor nem. Az eredmények

alapján mindkét analitikai módszerrel nyert eredmény alkalmas a kezelések hatásának glikémiás értékre gyakorolt hatásának kiszámítására.

A fent összefoglalt eredmények alapján kijelenthető, hogy a vizsgálatokhoz alkalmazott hibrid emésztésszimulációs módszer (*in vivo* száj szakasszal és szemi-dinamikus gyomri szakasszal) alkalmas élelmiszerek glükóz felszabadulásának vizsgálatára, és gátlási céllal alkalmazott kezelések hatásának feltérképezésére és számszerűsítésére. A kapott adatok alapján pedig élelmiszerek glikémiás indexe számolható.

## 6. Összefoglalás

A szénhidrátok a fehérjék és a zsírok mellett az élelmiszerekben és italokban található három markotápanyag egyike, fő szerepük, hogy energiát szolgáltatnak az élő szervezetben. A poliszacharidokat, mint a keményítő azonban ehhez le kell bontani monoszacharidokra (glükózra), amelyet emésztés során az alfa-amiláz enzim végez. Az emésztés során megjelent glükóz mennyiségéből számolható az élelmiszerekre és ételek glikémiás indexe, mely a szénhidrátok vércukorszint-emelő képességének minőségi mutatója. Ennek megadásához egy adott élelmiszer emésztése során a felszabadult glükóz mennyiségét egy referenciaételhez, általában egy szelet fehér kenyérhez viszonyítják, és ez alapján társítanak egy értéket (0-100-as skálán) az adott élelmiszerhez. Minél magasabb ez az érték, annál jobban emeli meg az étel a vércukorszintet.

A glikémiás sajátságok feltérképezése, illetve a csökkentésre alkalmas anyagok tesztelése *in vivo* módszerekkel történtek, azonban ezeknek hátránya, hogy drágák, sok mérést igényelnek, etikai korlátokba ütközhetnek, valamint személyenként nagy variabilitása van. Az utóbbi években egyre nagyobb hangsúlyt fektetnek az *in vitro* emésztésszimulációs mérésekre, melyek előnye, hogy reprodukálhatóak, költséghatékonyak, és nem ütköznek etikai gátakba. Ebből következően egyik részcelom egy hibrid emésztésszimulációs módszer kialakítása és tesztelés volt, mely kifejezetten glükóz felszabadulás monitorozását teszi lehetővé.

Az ételek glikémiás sajátságának csökkentésére több megoldás létezik, melyek közül az egyik az alfa-amiláz enzim gátló anyagok együtt fogyasztása magas glikémiás sajátságú élelmiszerekkel. Az élelmiszerekben meg található polifenolok, rostok vagy savak képesek képesek lehetnek erre a feladatra. Egy ilyen célra alkalmas élelmiszer lehet, a Magyarországon elterjedt meggy is, mely jelentős mennyiségű polifenol, rost tartalma mellett savas jellege miatt is megfelelhet.

A kísérletek során a meggy alfa-amiláz gátló hatását vizsgáltam fehér kenyér esetében, melyet egy hibrid emésztésszimulációval, valamint spektrofotometriával határoztam meg. Emellett a savas karakter specifikus hatásának feltérképezésére a meggylé savasságát szimuláló kontroll-oldat hatását is megvizsgáltam, ugyanazokkal a módszerekkel. Az eredmények alapján kiderült, hogy a vizsgált meggylének nincs jelentős hatása a fehér kenyér összes szénhidrát emészthetőségére, azonban a gyomri szakaszban némileg csökkenteni képes a glükóz felszabadulást. A kontroll-oldat ehhez hasonlóan a gyomri szakaszban csökkentette csak a glükóz felszabadulást, de az emésztés végén mért összes emészthető glükóz mennyiségre nem volt hatással. A mérések közti különbségek elemzésével az is kiderült, hogy a hatást minták



savassága okozza vagy a jelenlévő egyéb molekulák (polifenolok, rostok). Emellett az is kimutatható volt, hogy a savasság hatására a fehér kenyér glikémiás indexe is csökkent – vagyis a kontroll-oldat együttemésztés során, jelentős hatással volt a fehér kenyér glikémiás sajátságára.

Az összefoglalt eredmények alapján elmondható, hogy a vizsgálatokhoz alkalmazott hibrid emésztésszimulációs módszer (*in vivo* száj szakasszal és szemi-dinamikus gyomri szakasszal) alkalmas élelmiszerek glükóz felszabadulásának vizsgálatára, és gátlási céllal alkalmazott kezelések hatásának feltérképezésére és számszerűsítésére. A kapott adatok alapján pedig élelmiszerek glikémiás indexe számolható.

## Hivatkozások

- G.O. Aspinall (Ed.), *The Polysaccharides*, 1, Academic Press, New York (1982)
- Blando, F., & Oomah, B. D. (2019). Sweet and sour cherries: Origin, distribution, nutritional composition and health benefits. *Trends in Food Science & Technology*, 86, 517–529. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.052>
- Dersjant-Li, Y., & Peisker, M. (2010). The impact of soy oligosaccharides on digestion and intestinal health in weaning piglets. *Livestock Science*, 134(1), 187–189. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.06.137>
- Dhingra, D., Michael, M., Rajput, H., & Patil, R. T. (2012). Dietary fibre in foods: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 49(3), 255–266. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0365-5>
- Fernandes, J.-M., Madalena, D. A., Pinheiro, A. C., & Vicente, A. A. (2020). Rice in vitro digestion: Application of INFOGEST harmonized protocol for glycemic index determination and starch morphological study. *Journal of Food Science and Technology*, 57(4), 1393–1404. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04174-x>
- Freitas, D., & Feunteun, S. L. (2018). Acid induced reduction of the glycaemic response to starch-rich foods: The salivary  $\alpha$ -amylase inhibition hypothesis. *Food & Function*, 9(10), 5096–5102. <https://doi.org/10.1039/C8FO01489B>
- Freitas, D., & Le Feunteun, S. (2019). Inhibitory effect of black tea, lemon juice, and other beverages on salivary and pancreatic amylases: What impact on bread starch digestion? A dynamic in vitro study. *Food Chemistry*, 297, 124885. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.159>
- Frost, G., & Dornhorst, A. (2013). Glycemic Index. In B. Caballero (Ed.), *Encyclopedia of Human Nutrition (Third Edition)* (pp. 393–398). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-375083-9.00136-7>

- Galisteo, M., Duarte, J., & Zarzuelo, A. (2008). Effects of dietary fibers on disturbances clustered in the metabolic syndrome. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, *19*(2), 71–84. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2007.02.009>
- Goh, R., Gao, J., Ananingsih, V. K., Ranawana, V., Henry, C. J., & Zhou, W. (2015). Green tea catechins reduced the glycaemic potential of bread: An in vitro digestibility study. *Food Chemistry*, *180*, 203–210. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.054>
- Graça, C., Raymundo, A., & Sousa, I. de. (2021). Yoghurt and curd cheese addition to wheat bread dough: Impact on in vitro starch digestibility and estimated glycemic index. *Food Chemistry*, *339*, 127887. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127887>
- Horii, S., Fukase, H., Matsuo, T., Kameda, Y., Asano, N., & Matsui, K. (1986). Synthesis and alpha-D-glucosidase inhibitory activity of N-substituted valiolamine derivatives as potential oral antidiabetic agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, *29*(6), 1038–1046. <https://doi.org/10.1021/jm00156a023>
- Jenkins, D. J., Wolever, T. M., Taylor, R. H., Barker, H., Fielden, H., Baldwin, J. M., Bowling, A. C., Newman, H. C., Jenkins, A. L., & Goff, D. V. (1981). Glycemic index of foods: A physiological basis for carbohydrate exchange. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *34*(3), 362–366. <https://doi.org/10.1093/ajcn/34.3.362>
- Kerimi, A., Nyambe-Silavwe, H., Gauer, J. S., Tomás-Barberán, F. A., & Williamson, G. (2017). Pomegranate juice, but not an extract, confers a lower glycemic response on a high-glycemic index food: Randomized, crossover, controlled trials in healthy subjects†‡§. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *106*(6), 1384–1393. <https://doi.org/10.3945/ajcn.117.161968>
- Linkner, E. (Lev), & Humphreys, C. (2012). Chapter 31—Insulin Resistance and the Metabolic Syndrome. In D. Rakel (Ed.), *Integrative Medicine (Third Edition)* (pp. 284-296.e4). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4377-1793-8.00031-5>

- Lu, M., Pilla, S. J., & Oh, S. H. (2023). Diabetes mellitus: Dietary management. In B. Caballero (Ed.), *Encyclopedia of Human Nutrition (Fourth Edition)* (pp. 234–251). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821848-8.00021-4>
- Maibam, B. D., Chakraborty, S., Nickhil, C., & Deka, S. C. (2023). Effect of Euryale ferox seed shell extract addition on the in vitro starch digestibility and predicted glycemic index of wheat-based bread. *International Journal of Biological Macromolecules*, 226, 1066–1078. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.11.223>
- Minekus, M., Alming, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Feunteun, S. L., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., ... Brodkorb, A. (2014). A standardised static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus. *Food & Function*, 5(6), 1113–1124. <https://doi.org/10.1039/C3FO60702J>
- Mosca, A. C., van de Velde, F., Bult, J. H. F., van Boekel, M. A. J. S., & Stieger, M. (2015). Taste enhancement in food gels: Effect of fracture properties on oral breakdown, bolus formation and sweetness intensity. *Food Hydrocolloids*, 43, 794–802. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.08.009>
- Muir, J., Birkett, A., Brown, I., Jones, G., & O’Dea, K. (1995). Food processing and maize variety affects amounts of starch escaping digestion in the small intestine. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 61(1), 82–89. <https://doi.org/10.1093/ajcn/61.1.82>
- Mulet-Cabero, A.-I., Egger, L., Portmann, R., Ménard, O., Marze, S., Minekus, M., Feunteun, S. L., Sarkar, A., Grundy, M. M.-L., Carrière, F., Golding, M., Dupont, D., Recio, I., Brodkorb, A., & Mackie, A. (2020). A standardised semi-dynamic in vitro digestion method suitable for food – an international consensus. *Food & Function*, 11(2), 1702–1720. <https://doi.org/10.1039/C9FO01293A>

- Narita, Y., & Inouye, K. (2015). Chapter 84 - Inhibition of Porcine Pancreas  $\alpha$ -Amylase by Chlorogenic Acids from Green Coffee Beans and Cinnamic Acid Derivatives: A Focus on Kinetic. In V. R. Preedy (Ed.), *Coffee in Health and Disease Prevention* (pp. 757–763). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409517-5.00084-X>
- Ncama, K., & Magwaza, L. S. (2021). Chapter 3—Analytical technologies in sugar and carbohydrate processing. In C. M. Galanakis (Ed.), *Innovative Food Analysis* (pp. 67–84). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819493-5.00003-0>
- Nyambe-Silavwe, H., & Williamson, G. (2018). Chlorogenic and phenolic acids are only very weak inhibitors of human salivary  $\alpha$ -amylase and rat intestinal maltase activities. *Food Research International*, *113*, 452–455. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.07.038>
- Papp, N., Szilvássy, B., Abrankó, L., Szabó, T., Pfeiffer, P., Szabó, Z., Nyéki, J., Ercisli, S., Stefanovits-Bányai, É., & Hegedűs, A. (2010). Main quality attributes and antioxidants in Hungarian sour cherries: Identification of genotypes with enhanced functional properties. *International Journal of Food Science & Technology*, *45*(2), 395–402. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.02168.x>
- Paramasivam, D., Meyyazhagan, A., Thiagarajulu, N., Arumugasamy, K., Balasubramanian, B., Alanazi, A. M., & Rengasamy, K. R. R. (2023). Marine brown algae (*Sargassum wightii*) derived 9-hydroxyhexadecanoic acid: A promising inhibitor of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase with mechanistic insights from molecular docking and its non-target toxicity analysis. *South African Journal of Botany*, *161*, 627–637. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.08.064>
- Peerajit, P., Chiewchan, N., & Devahastin, S. (2012). Effects of pretreatment methods on health-related functional properties of high dietary fibre powder from lime residues. *Food Chemistry*, *132*(4), 1891–1898. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.12.022>

- Sen, D., Gosling, A., Stevens, G. W., Bhattacharya, P. K., Barber, A. R., Kentish, S. E., Bhattacharjee, C., & Gras, S. L. (2011). Galactosyl oligosaccharide purification by ethanol precipitation. *Food Chemistry*, *128*(3), 773–777. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.076>
- Wolever, T. M., & Mehling, C. (2003). Long-term effect of varying the source or amount of dietary carbohydrate on postprandial plasma glucose, insulin, triacylglycerol, and free fatty acid concentrations in subjects with impaired glucose tolerance<sup>123</sup>. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *77*(3), 612–621. <https://doi.org/10.1093/ajcn/77.3.612>

## NYILATKOZAT

### a diplomadolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve:	Bartók Kornél
A Hallgató Neptun kódja:	BAKKCY
A dolgozat címe:	Magas savtartalmú élelmiszerek amilázgátló hatásának vizsgálata emésztésszimulációval
A megjelenés éve:	2023
A konzulens intézetének neve:	Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
A konzulens tanszékének a neve:	Élelmiszerkémia és Analitika Tanszék

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

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

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

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

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

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

Kelt: 2023.11.05.



Hallgató aláírása

## NYILATKOZAT

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

A záródolgozatot/szakedolgozatot/diplomadolgozatot/portfóliót a záróvizsgán történő védésre **javaslom** / nem javaslom.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz:            igen    nem

Kelt: 2023.11.05.



belső konzulens