

DEBRECENI EGYETEM
MEZŐGAZDASÁG-, ÉLELMISZERTUDOMÁNYI ÉS
KÖRNYEZETGAZDÁLKODÁSI KAR
AGROKÉMIAI ÉS TALAJTANI INTÉZET

Intézetigazgató:
Dr. Balláné dr. Kovács Andrea
egyetemi docens

**Extrakciós paraméterek változásának hatása fehér ürömfű kivonatok
antioxidáns tartalmára és a kivonatok színére**

TDK dolgozat

Készítette:
Botkó Zsombor
élelmiszerbiztonsági és -minőségi mérnök
jelölt

Konzulensek:
Kincses Sándorné Dr.
egyetemi docens

Prof. Dr. Kovács Béla Róbert
egyetemi tanár, intézetigazgató

Debrecen
2024

TARTALOMJEGYZÉK

BEVEZETÉS.....	3
1. TÉMAFELVETÉS	4
2. SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉS	5
2.1. A fehér ürömfű (<i>Artemisia absinthum</i>) általános jellemzése	5
2.2. A fehér ürömfű borászati és szeszipari alkalmazása	5
2.2.1. Felhasználása az abszint gyártása során.....	6
2.2.2. Felhasználása ízesített/aromatizált borok és likőrök előállításánál.....	6
2.2.3. Felhasználása a vermutok előállításánál.....	7
2.3. A fehér ürömfű gyógyszeripari alkalmazása és néhány pozitív élettani hatása	8
2.3.1. Antioxidáns hatása	8
2.3.2. Antikarcinogén hatása	9
2.3.3. Antimikrobiális és parazitaellenes hatása	9
3. ANYAG ÉS MÓDSZER	11
3.1. Az extrakcióhoz használt paraméterek megválasztásának háttere	11
3.1.1. Az vizsgált oldószerösszetételek meghatározásának háttere	11
3.1.2 A vizsgált hőmérsékletek megválasztásának háttere.....	12
3.2. Az vizsgálatokhoz használt kivonatok elkészítésének menete	12
3.3. A minták összes polifenol tartalmának (TPC) meghatározása.....	13
3.4. A minták antioxidáns kapacitásának meghatározása FRAP-módszer segítségével	14
3.5. A minták színének vizsgálata spektrofotometriánál	14
3.6. A minták színének értékelése digitális képre alapozott színméréssel.	15
3.6. Statisztikai vizsgálatok	16
4. EREDMÉNYEK ÉS AZOK ÉRTÉKELÉSE	17
4.1. A kivonatok összes polifenol tartalmának (TPC) értékelése.....	17
4.2. A kivonatok FRAP-értékének értékelése	22
4.3. A kivonatok színének értékelése spektrofotometriánál.....	25
4.4. A kivonatok színének értékelése digitális képfeldolgozásra alapozott mérésekkel	31
4.5. A korrelációvizsgálat eredménye	33
5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK.....	34
ÖSSZEFOGLALÁS	36
SZAKIRODALMI JEGYZÉK	38

BEVEZETÉS

Az élelmiszeripar mindig is alkalmazott különböző formában gyógynövényeket. Felhasználásuk célja elsősorban az élvezeti érték növelése volt, hiszen számos közülük aromaanyagokban gazdagnak mondható, ami ideálissá tette őket különböző ételek és különösképpen alkoholos italok ízesítéséhez (KAEFER – MILNER, 2008). Az utóbbi időszakban egyre gyakrabban találunk ugyanakkor különböző kivonatokkal készített étrendkiegészítőket és funkcionális élelmiszereket is. Ezek sokkal inkább a növények pozitív élettani hatásait igyekeznek kiaknázni és egyre nagyobb népszerűségnek örvendenek fogyasztói oldalról (THAKKAR et al., 2020). Szintén elmondható, hogy bár számos ilyen növény alkalmazása empirikus alapokra vezethető vissza, azonban egyre többük esetében bizonyosodik be, hogy jótékony hatásuknak igazolható biokémiai háttere van, számos esetben pedig valóban hasznosak lehetnek egyes betegségek megelőzésében (PARHAM et al., 2020).

Az idők során többféle feldolgozási módja alakult ki a gyógynövényeknek, annak megfelelően, hogy az egyes szakágazatok milyen célra szándékoznak felhasználni azokat (AZMIN et al., 2016). Az eltérő technológiák eltérő kémiai összetételt eredményeznek, így hatásuk pontos ismerete egy-egy növény kinyerni kívánt komponenseire alapvető fontosságú. Különböző feltárási módok mellett, eltérő lehet például az aromaanyagok, pigmentek vagy bioaktív komponensek lebomlásának mértéke (GOVINDARAGHAVAN – SUCHER, 2015), ami alapvetően meghatározza a technológiák és folyamatok tervezését ipari alkalmazások esetében. Ennek esszenciális előszobája a laboratóriumi, valamint a félüzemi tesztek elvégzése, melyek jó alapot szolgáltatnak a későbbi ipari optimalizáláshoz.

A fehér ürömfű (*Artemisia absinthium*) egyike az Európában legrégebb óta alkalmazott gyógynövényeknek. Felhasználását az élelmiszeriparban leginkább a szesziparhoz köthetjük, hiszen számos likőr és vermut gyártásához használt fűszerkeverékben találjuk meg, mint keserű ízt adó fűszert (MORATA et al., 2019), ugyanakkor ennek a növénynek köszönhetjük az abszint jellegzetes zöld színét (LACHENMEIER, 2007). Gyógyászati alkalmazása sem tekinthető újkeletűnek, hiszen hosszú időken át alkalmazták máj- és epeproblémákra, étvágytalanság és emésztési panaszok enyhítésére. Napjainkra számos más területen is vizsgálják e növény hatékonyságát. Alkalmas lehet például a daganatos megbetegedésekkel szembeni kiegészítő terápiaként, valamint protozoonok és paraziták okozta fertőzések visszaszorításában is (BATIHA et al., 2020).

1. TÉMAFELVETÉS

A gyógynövények élelmiszeriparban történő feldolgozásának leggyakoribb módjai közé tartoznak a fitokemikáliák minél nagyobb mértékű kinyerését célzó extrakciós technikák, azon belül pedig a szilárd-folyadék extrakciós eljárások. A kivonatok hagyományos előállítása többféleképpen is megtörténhet, például forrázatok vagy infúziók készítésével, de gyakran kerül alkalmazásra az egyszerű áztatás/maceráció is. Az extrahálendő komponenseknek megfelelően, általában különböző szolvenseket alkalmaznak, melyek valamilyen szerves oldószer, például etanol, metanol vagy aceton és víz elegyeit jelentik. Az idők során ezeknek az extrakciós megoldásoknak számos megvalósítása formája alakult ki, amiknek elsődleges célja az eljárások feltárókéességének, azaz a kivonás hatékonyságának növelése a célja (AZMIN et al., 2016).

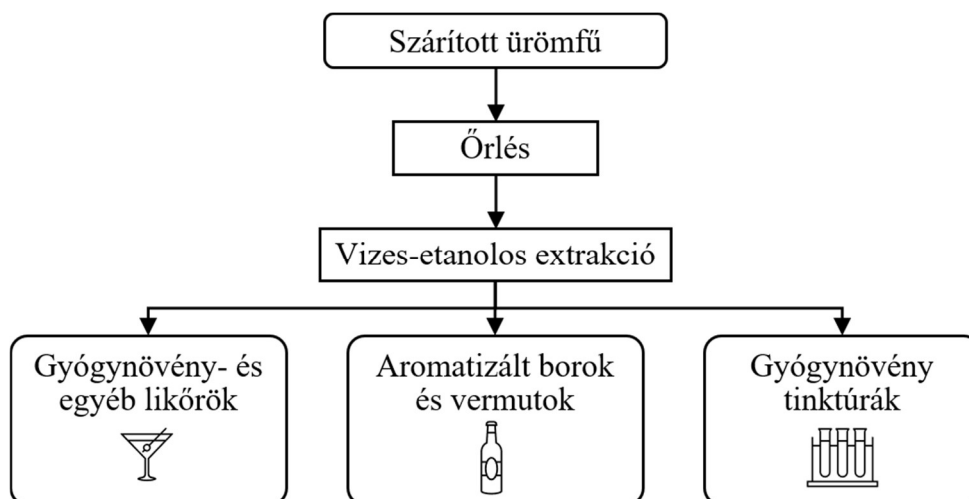
A magas hőmérséklet bár gyorsítja az egyes anyagok kioldódását, ugyanakkor számos, a felhasználás szempontjából egyébként értékes hőérzékeny komponens, például aromaanyagok (MAHANTA et al., 2021), bioaktív komponensek és pigmentek bomlását eredményezheti (ARIAS-RICO et al., 2020), illetve a kivonat érzékszervi paramétereiben is nemkívánatos változásokat okozhat. Ennek megfelelően az extraktumok készítésénél is egyre nagyobb teret nyernek a közvetlen forralást mellőző eljárások, mint a szuperkritikus-fluid extrakció (SFE), valamint a hagyományos maceráció modernizált, jobb teljesítményű változatai, például a mikrohullámmal (MAE) vagy ultrahanggal (UAE) segített szilárd-folyadék extrakciós eljárások. Ugyanakkor a szesziparban, valamint a borászatban továbbra is elterjedt a hagyományos áztatás, azaz a maceráció alkalmazása is (MORATA et al., 2019).

Az ipari léptékű termék előállítás megköveteli a hatékonyabb eljárások alkalmazását. Emiatt a korábban említett, segített extrakciós eljárások várhatóan egyre inkább teret fognak nyerni, kiváltva ezzel az idő- és oldószerigényes hagyományos macerációt. Ezek közül különösen ígéretesnek tekinthető az ipari implementálást illetően az ultrahanggal segített extrakció, amely kísérletek alapján gyakorta hatékonyabb, mint a mikrohullámmal segített társa (SHEN et al., 2023). Dolgozatomban azokra a kérdésekre kerestem a választ, hogy hogyan befolyásolják egyes extrakciós paraméterek változásai a szesziparban régóta alkalmazott, a gyógyszeriparban pedig újabban egyre inkább kutatót fehér ürömfűből (*Artemisia absinthum*) ultrahanggal segített extrakciós technikával készített vizes-etanolos kivonatok antioxidáns tartalmát, valamint a kivonatok színét.

2. SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A fehér ürömfű (*Artemisia absinthum*) általános jellemzése

A fehér ürömfű egy régóta ismert és alkalmazott gyógynövénynek tekinthető. Megjelenését illetően e növénnel zöldes-szürkés, hegyes levelekkel fedett bokor formájában találkozhatunk leggyakrabban, magassága 1 méter körüli. Könnyen felismerhető jellegzetesen erős, szúrós szagáról, melyet a levelein kiválasztott illóolajoknak köszönhet. Európa számos országában mondható elterjedtnek, de Ázsia egyes részein és Észak-Amerikában is őshonosnak tekinthető (SZOPA et al., 2020). Nem tekinthető igényes növénynek, sziklás terepen, hegyoldalokban, valamint műveletlen területeken is megél. Napjainkra hibridjei is léteznek más ürömfű fajokkal, melyeket azzal a céllal hoztak létre, hogy a gyógyszeripar igényeit kielégítsék, hiszen hatóanyagaiból maláriagyógyszert is készítenek (BHAT, 2019). Ipari felhasználásait az 1. ábra összegzi.



1. ábra: A fehér ürömfű ipari felhasználása

Forrás: Saját forrás

2.2. A fehér ürömfű borászati és szeszipari alkalmazása

Valamennyi bor- és szeszipari alkalmazás esetében igaz, hogy az erősen keserű íz kialakítására használják. Ezt a tulajdonságát a benne található különböző lakton-típusú vegyületeknek köszönheti, melyek között kimondottan erre a növényre jellemző az abszinthin, valamint annak izomerjei, az anabszintin, az anabszin, valamint az artabszin

(BACH et al., 2016). Szintén a keserűanyagok között említhető ezen felül az abszintfogyasztás káros hatásaival sűrűn kapcsolatba hozott tujon is (MORATA et al., 2019).

2.2.1. Felhasználása az abszint gyártása során

A fehér ürömfű talán leginkább ismert felhasználási módja az abszint nevű likőrkülönlegesség ízesítésére történő alkalmazás. Az abszint elnevezés a növény latin nevéből, az *Artemisia absinthum*-ból eredeztethető. Ezen ital előállítása a 18. században indult Svájc francia nyelvterületein, azonban nagyon hamar elterjedt. Az abszint fogyasztása eredetileg már-már rituális keretek között történt, mely során speciálisan erre a célra készített zöld színű poharakat használtak (NGUYEN – NÉMETH, 2016). Az abszint rövid idő alatt státuszsztimbóummá vált, azonban széleskörű elterjedését követően számos tanulmány számolt be a rendszeres fogyasztásával kapcsolatba hozható különböző idegrendszeri és más fiziológias problémákról. Sok orvos csoport fejezte ki emiatt tiltakozását az abszinttal szemben, melynek eredményeképpen több országban gyártását betiltották, az ürömfű kivonatainak forgalmazását pedig vénykötelessé tették. Ezeket a korlátozásokat azonban az ezredforduló környékén csaknem mindenhol feloldották (BAUER, 2020).

Az abszintgyártásban az ízesítésen túl igencsak fontos szerepe van az ürömfűnek az ital színének kialakításában is. A hagyományos abszintkészítési eljárás során a gyógynövényekből készített párlatot egy úgynevezett második macerációnak vetik alá, ahol az ürömfűből kivont klorofilek (valamint azok származékai) szolgáltatják az ital jellegzetes halvány zöld színét (LACHENMEIER et al., 2006). A jelenkorban a prémium kategóriás és tradicionális termékek előállítása során továbbra is ezzel az eljárással nyerik az ital színét, azonban az olcsóbb, gyenge minőségű abszintok esetében jellemzőnek mondható a különböző színezékek, mint például a brillantkék FCF, azaz az E133 alkalmazása is, a jellegzetes zöldes szín kialakítása érdekében (LACHENMEIER, 2007).

2.2.2. Felhasználása ízesített/aromatizált borok és likőrök előállítása során

A borászat terén az ürömfű leggyakoribb felhasználása az ízesített borok és likőrborok készítése, ami számos országban hosszú és gazdag hagyományokra tekint vissza. A technológiát tekintve legtöbbször vagy közvetlenül a borban, vagy közvetetten etanolban,

esetleg valamilyen párlatban történik meg a kiválasztott fűszerek macerációja, de ezek kombinációját is alkalmazzák. Az így nyert extraktumot – amennyiben a késztermék kívánt paraméterei úgy szükségeltetik – valamilyen édesítőanyag (leggyakrabban cukorszirup) és tiszta etanol vagy valamilyen alkoholos desztillátum, például borpárlat hozzáadása mellett keverik az alapborhoz. Az ürömfű mellett gyakran használnak gyógynövényeken kívül olyan közismert fűszereket is, mint a majoránna, a bazsalikom vagy a fahéj (LIANG et al., 2021).

Az ilyen gyógy- és fűszernövényekkel ízesített boroknak Európában is számos képviselője akad. Ilyen például a mai napig az említett macerációs eljárással, Szerbiában készített „bermet” is, ami korábban jelentős szerepet töltött be az ország borexportjában, mint desszertbor (TRIŠIĆ et al., 2020). Bulgáriában „pelin” néven készítenek ürmösborokat, melyek esetében maga az ital neve is az ürömfűre utal, akárcsak a horvátországi „pelinkovac” és a szlovén „pelinkovec” likőrök esetében melyek készítése során szintén tradicionális áztatásos módszerrel végzik a kivonást (BONEVA et al., 2024).

2.2.3. Felhasználása a vermutok előállítása során

Az abszint mellett a közvéleményben a másik legismertebb ürömfű felhasználásával készített italnak a vermut mondható. Ez az ital az ízesített borok egy speciális fajtája, aminek készítése leginkább Európához, azon belül pedig ipari léptékű előállítása az olaszországi Torinóhoz köthető. Napjainkra ugyanakkor megállapítható, hogy valamennyi kontinensen ismert és kedvelt italkülönlegességnek számít (JASMINE, 2023). Érdeemes megemlíteni, hogy a vermutkészítés itthon is nagy múltra tekint vissza, hiszen az ilyen italokkal kapcsolatban már a 16. században is találunk magyar írásos emlékeket. Előállításuk hazánkban, legnagyobb mennyiségben Budafokon történt, ahol külön a számukra dedikált pincékben érlelték a vermutokat (EPERJESI et al., 2010).

Gyártástechnológiájuk az aromatizált borok előállításával nagyfokú hasonlóságot mutat, az ízesítéshez használt fűszernövényeket ebben az esetben is kiszárítva és őrölve áztatják több hétig etanol-víz elegyekbe, majd egy alapbort az így nyert kivonattal ízesítenek, szükség szerint édesítenek, utána több hónapon át rozsdamentes acél- vagy tölgyfahordóban érlelik. A vermutok karakterkialakításának elmaradhatatlan összetevője az ürömfű, ami az italra jellemző kesernyés ízt szolgáltatja, de ezen felül, itt is számos egyéb gyógy- és

fűszernövény alkalmazása mondható gyakorinak, például a kamilla, az angelikafű vagy a szegfűszeg (MORATA et al., 2019).

2.3. A fehér ürömfű gyógyszeripari alkalmazása és néhány pozitív élettani hatása

A legtöbb szesziparban használt gyógynövény esetében elmondható, hogy élelmiszeripari alkalmazásukon túl rendelkeznek jótékony élettani hatásokkal is. Ez halmozottan igaz a fehér ürömfű esetében, melyet ilyen célra elsősorban tinktúrák formájában alkalmaztak. Empirikus alapokon történő használata mellett napjaink gyógyszerkutatásában is egyre több kedvező fiziológiás hatását sikerül igazolni (SZOPA et al., 2020), melyek közül sokat elsősorban a benne megtalálható polifenol komponenseknek köszönhet. Utóbbiak antioxidáns hatása miatt a kozmetikai ipar számára is potenciális alapanyaggá tette az ürömfűvet (EKIERT et al., 2022).

2.3.1. Antioxidáns hatása

Az *Artemisia*-fajok fenolos összetételét illetően elmondható, hogy leginkább fenolsavakban (például klorogénsavban vagy kávésavban) mondható gazdagnak, ugyanakkor a flavonoidok közé sorolható vegyületek is megtalálhatóak bennük. Az ezeken a vegyületcsoportokon belüli egyedi összetételt nagyban befolyásolhatják olyan tényezők is természetesen, mint a termőhelyi adottságok (BOUDJELAL et al., 2020). Kimondottan az *Artemisia*-fajokra jellemző fitokemikáliák, ezen felül az artemetin és a casticin is, melyek a flavonoid-fenolok közé sorolható vegyületek. Az ürömfűvek jótékony hatásait sokszor elsősorban az előbb említett vegyületekre és más polifenol-komponensekre vezetik vissza (EKIERT et al., 2022).

Antioxidáns hatása in vitro és in vivo is bizonyítottnak tekinthető. Az *Artemisia absinthium* alkoholos kivonatai egerekben hatékonynak voltak az agyszövet indukált sérüléséhez kapcsolódó lipidperoxidáció mértékének csökkentésében, valamint olyan sejtszintű antioxidáns enzimek alapállapotának visszaállításában is, mint a szuperoxid-dizmutáz (SOD) vagy a glutation (GSH), melyek kulcsfontosságúak az oxidatív stresszel szembeni celluláris védekezőképességben (BORA – SHARMA, 2011). Szintén erre a tulajdonságára vezethető vissza az ürömfű kivonatok patkányokban bemutatott gyomorfekély

ellenes hatás is, hiszen ezen betegség patogenezisében is a kiváltó faktorok közé tartozik a reaktív oxigénformák mennyiségének tartósan magas szintje (KAOUDOUNE et al., 2020).

2.3.2. Antikarcinogén hatása

Rákellenes hatásához kapcsolódóan is számos ígéretes eredmény született a közelmúltban. SHAFI és munkatársai (2012) fehér ürömfű kivonatok alkalmazása során azt tapasztalták, hogy a növényből készített metanolos extraktumok, MDA-MB-231 és MCF-7 mellrákos sejtsoros modellekben képesek visszafogni a daganatos sejtek burjánzását, illetve a rákos sejtek apoptózisának indukálásában is szerepük lehet. Hasonló tapasztalatok vannak a növényből készített alkoholos extraktumok vastagbélrákra gyakorolt hatását illetően. NAZERI és munkatársai (2020) HCT-116 humán sejtsoros kísérletek alapján azt találták, hogy a növényből készített kivonatok antiproliferatív hatással rendelkeznek, amely az ürömfűben megtalálható bioaktív komponensekre (például az artemizininre), illetve azok daganatos sejtekre gyakorolt citotoxikus hatására vezethető vissza. WEI és munkatársai (2019) eredményei alapján a fehér ürömfű kivonatok a májrák egyik formájának, a hepatocelluláris karcinómának a visszaszorításában is hasznosnak bizonyultak BEL-7407-es humán sejtsorokban, valamint H22 sejtés egér modellekben.

A fentebb említett eredmények alapján belátható, hogy a fehér ürömfűből készített kivonatok alkalmazhatóságának vizsgálatára várhatóan a jövőben nagyobb figyelem hárulhat. Több tanulmánya álláspontja szerint a jövőben antikarcinogén hatása miatt felmerül kiegészítő kezelésként történő használatának lehetősége kemoterápiás kezelések során (KOYONCU, 2018, NAZERI et al., 2020). Ennek során komoly előnyt jelenthet, hogy így számos, az alkalmazott kemoterápiás szerekhez kapcsolódó mellékhatása elkerülhető, ahogyan azt WEI és munkatársai (2019) is tapasztalták egereken végzett kísérletek során.

2.3.3. Antimikrobiális és parazitaellenes hatása

Ezen tulajdonsága a növények szintén a másodlagos metabolitjaira vezethető vissza, melyek között számos fenolos komponenst találunk, melyek mikrobanövekedés gátló hatását már többször bizonyították (MOHAMMED et al., 2021). MSAADA és munkatársai (2015) Spanyolország különböző területeiről származó szárítmányokból készített kivonatok

vizsgálata nyomán arra a következtetésre jutottak, hogy a fehér ürömfű olyan gyakori patogén baktériumokkal szemben is hatékony lehet, mint a *Staphylococcus aureus* vagy a *Lysteria monocytogenes*. KHAN és munkatársai (2018) tanulmányában ilyen kivonatok antibiotikum-rezisztens törzsekre kifejtett hatásának vizsgálata során a *Staphylococcus aureus* mellett *Enterococcus faecium* esetében is dózis függő inhibáló hatást figyeltek meg. Ezek az eredmények a jövőbeli felhasználását illetően különösen ígéretesnek tekinthetők, hiszen a rezisztens törzsek okozta megbetegedések kezelési stratégiáinak kialakítása során az új szintetikus antibiotikumok fejlesztése mellett, a hasonló hatással bíró növényi kivonatok és fitokemikáliák alkalmazása egyre inkább teret hódít (JANZ et al., 2022).

Az ürömfűvet Európában már a népi gyógyászatban is sűrűn alkalmazták parazitaellenes hatása miatt az emésztőrendszerben megtelepedő élősködőkkel szemben (EKIERT et al., 2022). Természetesen napjaink gyógynövénykutatásai aktív érdeklődéssel vannak az ürömfű ilyen irányú hatása iránt, ami miatt újabb, az ezzel a funkcióval kapcsolatos eredmények láttak napvilágot. *Artemisia absinthium* alkoholos kivonatai valószínűsíthetően transz-kariofilén tartalmuk miatt in vitro eredményesnek bizonyultak például a Chagas-kórt kiváltó *Trypanosoma cruzi* nevű egysejtű élősködővel szemben (BAILEN et al., 2013). KIFLEYOHANNES és munkatársai (2014) *Trypanosoma congolense*-el fertőzött egereken végzett kísérletek alapján szintén erre a következtetésre jutottak. Az ürömfűvek maláriaellenes hatással is rendelkeznek, melyet főleg az egynyári ürömhöz (*Artemisia annua*) kötnek, azonban a fehér ürömfű is bír ilyen tulajdonságokkal. RAMZANI és munkatársai (2010) egereken végzett in vivo vizsgálataiban az *Artemisia absinthium* kivonatok mind a klorokin-érzékeny, mind klorokin-rezisztens *Plasmodium bergeri* törzsek esetében hatásosabbak voltak, mint az *Artemisia annua*-ból készítettek.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. Az extrakcióhoz használt paraméterek megválasztásának háttere

Az ultrahanggal segített extrakció (UAE) paramétereinek megválasztása során, korábbi tudományos munkák által a legoptimálisabbnak ítélt beállítások, és ipari alkalmazások esetén a szokásosan használt paraméterek alapján állapítottam meg a kivonatok készítésének pontos módozatát.

3.1.1. Az vizsgált oldószerösszetételek meghatározásának háttere

Mivel dolgozatom célja elsősorban az UAE lehetséges szeszipari alkalmazásának vizsgálata volt ürmöfűkivonatok előállítása során, ezért extrahálószerként az etanol használata mellett döntöttem. A vizsgált koncentrációk megállapításánál elsősorban ennek megfelelően a leggyakoribb ipari normákat vettem figyelembe, melyeket a Szakirodalmi áttekintésben bemutatott italok készítésénél leginkább alkalmazni szoktak. Ez likőrborok esetében legáltalánosabban 50 V/V%-os etanolt jelent (MORATA et al., 2019), azonban az irodalomban található alacsonyabb alkoholtartalom mellett történő extrakciók miatt 0 és 25 V/V%-os elegyeket is összeállítottam. Bár utóbbi koncentrációtartományok a legtöbb likőripari kivonás során gyakran alkalmazott töménységet is lefedik, azonban különleges italok esetében, mint például az abszintnál magasabb koncentrációk is jellemzőek, ahol a klorofill kinyerése céljából legalább 60 V/V%-os párlatokat alkalmaznak a második maceráció során, ami az italra jellemző zöld színért felelős (LACHENMEIER et al., 2006). Az összeállított kivonatok végül az extrahálószer etanol-aránya a következők szerint alakult: 0 (tisztán desztillált víz), 25, 50, 75 és 100 V/V% (csak tiszta etanol).

Az oldott anyag/oldószer arány meghatározása során SENDI és munkatársai (2020) tanulmányát vettem alapul, ahol a fehér ürmöfű kivonatok ultrahanggal segített extrakciójának optimalizálása során ezt az arányt tekintették a legnagyobb bioaktív komponens hozamúnak, illetve az 1:10 arányt más kutatások is kedvezőnek találták gyógynövény kivonatok készítéséhez (OREOPOULOU et al., 2019).

3.1.2 A vizsgált hőmérsékletek megválasztásának háttere

A kivonás hőmérsékletének megválasztásánál is elsősorban korábbi tudományos munkák tapasztalataira támaszkodtam, illetve elsősorban a fenolos komponensekkel kapcsolatos ismeretekre, hiszen azok változásai a táplálkozásélettani értéken túl a kivonatok színét is jelentős mértékben befolyásolhatják. Az ultrahanggal segített extrakció (UAE) és a mikrohullámmal segített extrakciónak (MAE) is egyik hátránya, hogy a kivonás során az oldatok hőmérséklete megnövekedhet, ami hosszabb idejű kezelés esetén jelentősebb hőfejlődésnél problémás lehet, termolabilis komponensek bomlása és oxidációja miatt (VINATORU et al., 2017). Ugyanakkor megfelelő extrakciós időt választva előnyös is lehet ez a fajta hőhatás, mivel megszüntetheti egyes fenolos komponensek kötött állapotát, ami lehetővé teszi azok hatékonyabb kivonását a növényi részekből (OREOPOULOU et al., 2019). A legalacsonyabb vizsgált hőmérsékletet az 50 perces ultrahangozással járó melegedés okozta hőfokban határoztam meg, ami a vizsgált kivonatokkal megegyező összetételű víz-etanol elegyek esetében 35 °C volt. A második hőfoklépcsőben a SENDI és munkatársai (2020) által legoptimálisabbnak ítélt 55 °C került, amiről elmondható, hogy a likőripar is gyakran dolgozik ebben a tartományban kivonatok készítése során (PIELECH-PRZYBYLSKA – BALCEREK, 2019). Mivel 80 °C körüli hőmérsékleten már számos bioaktív komponensek és aromaanyagokat érintő bomlási folyamat felerősödik (VINATORU et al., 2017), ezért a legfelső kivonási hőmérsékletet egy ennél alacsonyabb, 75 °C hőfokban határoztam meg.

3.2. Az vizsgálathoz használt kivonatok elkészítésének menete

A kutatásban elvégzett vizsgálatokhoz használt kivonatok előállításához kereskedelmi forgalomban kapható szárítmányt használtam, amely fehér ürömfű leveles és virágos hajtásaiból készült, légmentes, fényt át nem eresztő csomagolásban. Az extraktumok készítése előtt a kivonás hatékonyságának céljából a szárítmányt darálásnak vetettem alá, ezzel csökkentve a szemcseméretet, egyben növelve a kivonáshoz rendelkezésre álló fajlagos felület nagyságát. Ez a gyógynövény feldolgozásban általános eljárásnak tekinthető (SHAIK et al., 2023), illetve összhangban a korábbiakkal a likőrök és likőrborok gyártása során is hasonlóképpen történik (MORATA et al., 2019). A megdarált szárítmányokból analitikai

mérlegen 5 g-ot mértem ki egy-egy kivonathoz. Ezt követően a szárítmányt centrifugacsövekbe helyeztem, amit különböző arányú (0, 25, 50, 75 és 100 V/V% etanol tartalmú) 50 ml-re töltöttem abszolút etanol (VWR International S.A.S., Franciaország) és desztillált víz elegyekkel töltöttem fel. Ezt követően a csöveket lezártam, majd 50 percre Bandelin Sonorex RK-1029H ultrahangos fürdőbe (Bandelin Electronic GmbH & CO, KG, Németország) helyeztem őket különböző hőfokokon (35, 55 és 75 °C). Az ultrahangozás 35 kHz alkalmazásával történt. A csövek behelyezése csak akkor történt meg, ha a fürdő vize elérte a beállított hőmérsékletet, melynek visszaellenőrzése kézi hőmérő segítségével történt. Ezután a mintákat szűrőpapír és tölcsér segítségével leszűrtem. A vizsgálatokat az így nyert szűrleteken végeztem el.

3.3. A minták összes polifenol tartalmának (TPC) meghatározása

Az összes polifenoltartalom meghatározását SINGLETON és ROSSI (1965) módszere alapján végeztem. A módszer a polifenolok redukáló tulajdonságán alapszik. A foszfo-molibdénsav és foszfo-wolframsav elegyből álló Folin-Ciocalteu reagenst a polifenolos vegyületek molibdén- és wolfram oxiddá alakítják vissza, amit egy zöldes-sárgáról mély kékre történő színváltozás is kísér, ami spektrofotometriásan mérhető.

A méréshez leszűrt kivonatokból automata pipettával kimértem 5 cm³-t, majd ezt metanol és desztillált víz 80:20 arányú elegyével (Scharlab S.L., Spanyolország) 50 cm³-re hígítottam. A felhígított kivonatokból 0,5 cm³-t kémcsövekbe pipettáztam, majd ehhez hozzáadtam 2,5 cm³, 0,2 normalitású Folin-Ciocalteu reagenst (VWR International S.A.S., Franciaország), majd 5 perc múlva 75 g/cm³ töménységű nátrium-karbonát (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Németország) oldatot. Ezt követően a kémcsöveket 2 órán keresztül állni hagytam, majd desztillált vízzel 10 ml-re egészítettem ki őket, majd spektrofotométeren 760 nm-en mértem az abszorbanciát Metertek SP-850 spektrofotométeren (Metertek, Taiwan). Egy 5, 10, 20, 50 és 100 µg/cm³ galluszsavat (Alfa Aesar GmbH & Co. KG, Németország) tartalmazó referencia oldatsorozat alapján meghatározott egyenes egyenletébe a kapott abszorbancia értékeket behelyettesítve MS Excel (Microsoft, USA) segítségével kiszámítottam az oldatok polifenol tartalmát, melyet galluszsav-ekvivalensként (GAE) adtam meg mg/dm³-ben.

3.4. A minták antioxidáns kapacitásának meghatározása FRAP-módszer segítségével

Az antioxidáns kapacitás meghatározására a BENZIE és STRAIN (1996) FRAP (Ferric Reduction Ability of Plasma) módszere alapján végeztem el. A mérés háttérében álló reakció, hogy a Fe^{3+} -ionokat az antioxidáns hatású vegyületek Fe^{2+} -ionokká redukálják, amik savas pH-n a tripiridil-triazinnal (TPTZ) kékszínű komplexet adnak, amelyek intenzitását 593 nm-en mérve referencia oldatsorozat meghatározható a minták vasredukálóképessége.

A FRAP-érték meghatározásához az összes polifenol tartalom vizsgálatához használt szűrleteket használtam. A referencia oldatsorozat elkészítéséhez 1 mM aszkorbinsav oldatot (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Németország) és desztillált vizet használtam. Az így készített oldatok aszkorbinsav koncentrációi a következők voltak: 3,52, 7,04, 10,56, 14,08, valamint 17,6 mg/100 cm³. A leszűrt mintákból 100 mm³-t pipettáztam 10 cm³-es kémcsövekbe, majd ezekhez 3 cm³ FRAP reagenst adagoltam. A reakció végbemenetele után 593 nm-en mértem az az abszorbanciát, illetve a polifenol tartalomnál leírtak szerint a referencia oldatok értékei alapján kiszámítottam a mintákhoz tartozó FRAP-értékeket, melyeket aszkorbinsav-ekvivalensként (AAE) adtam meg mg/dm³-ben.

3.5. A minták színének vizsgálata spektrofotometrián

A minták színének vizsgálatát spektrofotometrián és digitális képre alapozott technikák segítségével egyaránt értékeltem, hogy a mérhető és az emberi szem számára érzékelhető különbségekről is képet kaphassak. A szín ismerete azért is fontos, mivel összhangban a korábbiakkal az ürmöfű szeszipari alkalmazása során színezőanyagként is alkalmazzák (LACHENMEIER, 2007).

A spektrofotometriás színmérés során a boroknál is használt Glories-féle színintenzitást (CI) használtam, ami a 420, 520 és 620 nm-en mérhető abszorbanciák összegeként értelmezhető, 1 cm optikai úthosszra vonatkoztatva. A módszer mérési elve, hogy 420 nm-en a sárgás színű komponensek, 520 nm-en a vöröses színűek, míg 620 nm-en a kékés színű vegyületek abszorpcióján alapul. A színintenzitás a következő képlet szerint kerül számításra:

$$CI = A_{420} + A_{520} + A_{620}$$

A módszerrel ezen felül az egyes színekhez árnyalatának/tónusának értéke is meghatározható, ami az egyes színekhez tartozó abszorbanciák értékének részaránya a teljes színintenzitás értékéből, a következők szerint (PÉREZ-MAGARIÑO – GONZÁLEZ-SAN JOSÉ, 2002):

$$Y \text{ (sárga)}\% = \frac{A_{420} * 100}{CI}$$

$$R \text{ (vörös)}\% = \frac{A_{520} * 100}{CI}$$

$$B \text{ (kék)}\% = \frac{A_{620} * 100}{CI}$$

3.6. A minták színének értékelése digitális képre alapozott színméréssel.

Noha a spektrofotometriás színmérés pontos és egzakt megközelítést szolgáltat oldatok színének leírása szempontjából, ugyanakkor ezek az adatok az emberi érzékelés szempontjából nehezen értelmezhetők.

Az élelmiszeriparban elsősorban folyamatszabályozásban alkalmaznak digitális képelemzésre alkalmazott eljárásokat, azonban a megfelelő feltételeket megteremtve, azok alkalmasak lehetnek analitikai célú színmérésre is, ahogyan azt számos korábbi tanulmány is bizonyította már. Ennek egyik alapfeltétele a standardizált körülmények megteremtése a felvételek során, valamint azok megfelelő, a vizsgálatokra alkalmas színterekbe való konverziója (HERRERO-LATORRE, et al., 2019)

Korábbi adatok alapján ehhez én is létrehoztam egy minden egyéb fényt kizáró, szabályozható megvilágítottágú kamrát, D65-ös megvilágítással és matt, semleges szürke borítással, hasonlóan MINZ és SAINI (2021) tanulmányához. A felvételek készítéséhez egy CANON EOS 400D (CANON, USA) fényképezőgépet használtam, mely távolságát álvánnyal fixáltam. A kamera lencséjétől 50 cm-re minden mintát egyesével küvettába töltöttem, majd a küvettákról távkioldó segítségével fényképfelvételt készítettem, egy 24 színt tartalmazó X-Rite ColorChecker referencia kártya (X-Rite Inc., USA) mellett, a színhelyesség későbbi korrekciójára céljából. A képek mentése a tömörítésből adódó veszteségek elkerülése érdekében tömörítésmentes „raw” formátumba történt.

A fényképek feldolgozása során első lépésben ImageJ 1.54k szoftverben (National Health Institute, USA) a „ColorCal” plugin segítségével a képeken szereplő referencia színekhez elvégeztem a program segítségével színek automatikus korrekcióját, a

színhelyesség garantálása érdekében (SUNOJ et al., 2018). Az így nyert képeken a küvetta felületén kijelöltem a Region of Interest-et (ROI), azaz azt a területet, ami a későbbi színmérések alapját szolgáltatta. Ezután a szoftver segítségével meghatároztam ennek átlagos Red-Green-Blue (RGB) szintérben értelmezett RGB-értékeit, a „Measure RGB” pluginnal. Ezt követően ezeket az RGB-koordinátákat MATLAB 2021b (Mathworks, USA) programban az „Image Processing Toolbox” használatával átszámítottam CIE L*a*b* koordinátákká, az „rgb2lab” funkció segítségével (AVILA-GEORGE, et al., 2023).

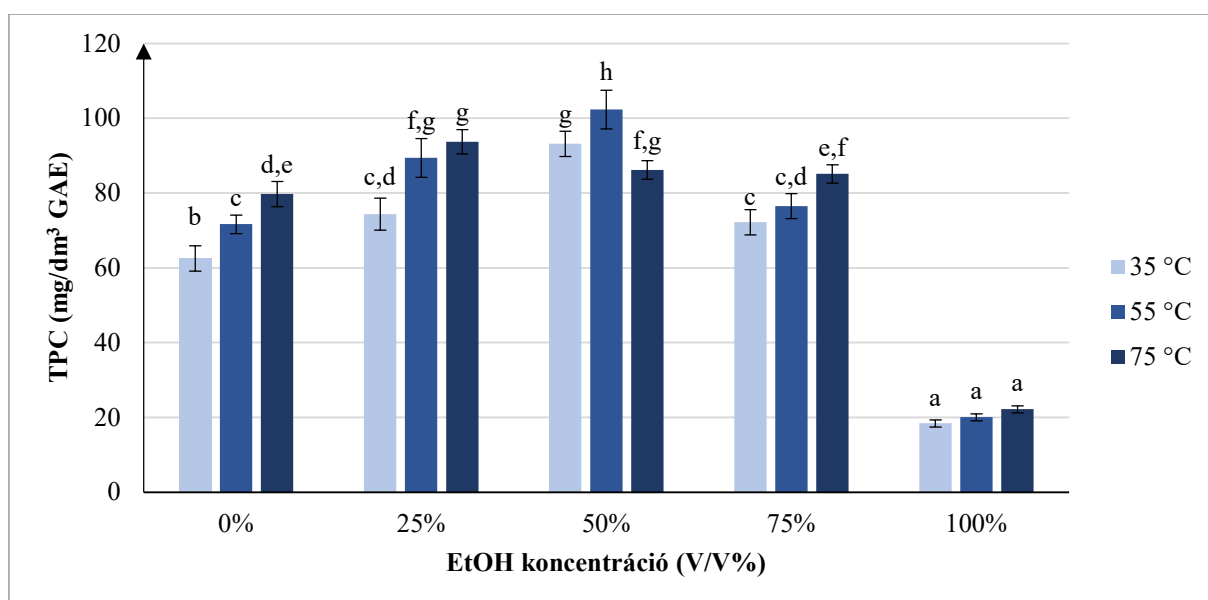
3.6. Statisztikai vizsgálatok

A minták kiértékelése során valamennyi eredmény 3 párhuzamosan készített kivonat átlagaként $\pm$ szórásaként került megadásra. A kivonatok eredményeinek összehasonlítása egytényezős varianciaanalízissel (ANOVA) történt. A szignifikáns különbségek pontos azonosítása Duncan-féle post hoc teszttel történt. Azokat az eseteket tekintettem szignifikánsnak, ahol p érték 0,05 alatti volt. Az egyes vizsgált paraméterek közötti kapcsolatok erőssége Pearson-féle korrelációs együttható meghatározásával történt. Valamennyi statisztikai vizsgálat kivitelezése során IBM SPSS 27.0.1 szoftvert (SPSS Inc. Chicago, Illinois, USA) használtam.

4. EREDMÉNYEK ÉS AZOK ÉRTÉKELÉSE

4.1. A kivonatok összes polifenol tartalmának (TPC) értékelése

A minták összes polifenol tartalmának alakulását a 2. ábra szemlélteti. A 75 °C-on végzett kivonást leszámítva valamennyi hőmérsékleten igaz volt, hogy az etanol koncentráció növelésével fokozatosan növekedett a kivonatok fenolos tartalma, azonban az 50 V/V% víz-etanol összetételt követően ez csökkenésbe ment át, mígnem a csak etanolból álló szolvensesknél ezt egy meredek esés követte. Az ábra alapján szembetűnő, hogy a fenolos tartalom kinyeréséhez a kizárólag etanolt tartalmazó elegyek nem használhatók hatékonyan.



2. ábra: Összes polifenol tartalom alakulása (az azonos betűkkel jelölt oszlopok esetén nincs szignifikáns különbség, $p > 0,05$)

Forrás: Saját forrás

Az így készített kivonatok $18,4 \pm 0,93$; $20,1 \pm 0,93$ és $22,2 \pm 0,93$ mg/dm³ GAE polifenol tartalommal rendelkeztek, ami minden más szolvenösszetételnél kapott eredményhez képest szignifikánsan alacsonyabbnak tekinthető, függetlenül a kivonás során alkalmazott hőmérséklettől. Statisztikai különbség az egyes hőmérsékletek között nem fordult elő ezek között. Az alacsony polifenol tartalomról a magas etanol tartalmú elegyekben korábbi kutatások is beszámoltak már az ürömfű esetében (SENDI et al., 2020). Ugyanakkor általánosságban is igaz gyógynövénykivonatok készítésénél, hogy tisztán etanol tartalmú

szolvenst használva lényegesen alacsonyabb polifenol tartalom érhető el, mint különböző víz-etanol elegyek alkalmazásával (OREOPOULOU et al., 2019).

ABATE és munkatársai (2021) kutatásukban ürömfűkivonatok kvantitatív elemzése során arra jutottak, hogy a növény fenolos profilját főleg alacsony molekulatömegű fenolok, valamint fenolsavak és lignánok alkotják, melyek kivonásához a legoptimálisabb szolvenst az 50 V/V% etanolt és vizet tartalmazó oldószerek jelentették abban a kutatásban. Az említett munkában arra is rámutattak, hogy a 90 V/V% etanol alkalmazása már jelentősen rontja az alacsony molekulatömegű fenolok extrakcióját, ezeknek a vegyületeknek a koncentrációja ott közel harmadára csökkent az 50 V/V% etanol tartalmú oldószer alkalmazásához képest. Mivel összhangban az eddigiekkel ez a vegyületcsoport jelentős részét teszi ki az összes fenolos tartalomnak, ezért annak alakulására nagyobb hatással lesz ezen vegyületek feltárásának mértéke, mint más, alacsonyabb koncentrációkban jelenlevő fenolos vegyületeké, ami egyben magyarázhatja, hogy az én mintáim esetében miért csökkenhetett az alkalmazott ultrahangozási hőmérséklettől függetlenül közel ötödére a minták összes polifenol tartalma, a 75 és a 100 V/V%-os etanol tartalommal végzett extrakció során.

Az előbb ismertetett eredményekkel egybevé, hogy az én esetemben is a legmagasabb polifenol tartalmat, $102 \pm 5,18 \text{ mg/dm}^3$ GAE-t az 50 V/V% etanol-víz szolvens hozta, 55 °C-on ultrahangozva, ami jó eséllyel ismételten elsősorban a növény fenolos tartalmának összetételére vezethető vissza. Az így nyert kivonat valamennyi minta eredményéhez képest szignifikánsan magasabb polifenol tartalommal rendelkezett. Ez az oldószerösszetétel más hőmérsékletek esetén is hatásosnak bizonyult, hiszen bár a 35 °C-on ultrahangozott minta TPC eredménye az előbb említett 55 °C-on végzett kivonásnál statisztikailag is alacsonyabb $93,2 \pm 3,36 \text{ mg/dm}^3$ GAE koncentrációt hozott, azonban ez továbbra is a harmadik legmagasabb eredménynek tekinthető, valamennyi minta közül. A két kivonat közötti differencia valószínűleg a hő hatására vezethető vissza, ami segítheti a növényi sejtek, egyben a különböző, kötött állapotban lévő polifenolok feltárását, egyben növeli a molekuláris diffúzió sebességét és a kioldott komponensek oldhatóságát is (OREOPOULOU et al., 2019). Többek között ez a jelenség az oka annak, hogy mind laboratóriumi, mind ipari körülmények között az extrakciós idő lerövidítésére gyakorta emelt hőmérsékleten végzik a gyógynövénykivonatok készítését (AZMIN et al., 2016), ahogyan azt emellett az infúziókkal készített vermutoknál is teszik (MORATA et al., 2019). Érdeemes ugyanakkor megemlíteni, hogy ezzel szemben a 75 °C-on extrahált minta eredménye mind a 35 °C, mind az 55 °C-on

készített kivonatnál is lényegesen alacsonyabb, $86,2 \pm 2,46$ mg/dm³ GAE volt. Ebben az esetben is felmerülhet a hőmérséklet hatása, mivel egyes polifenol komponensek, kiváltképpen a flavonoidok termikus bomlása tradicionális extrakció technikák esetében akár már 60-80 °C környékén is lejátszódhat, növényi kivonatok készítése során (ANTONY – FARID, 2022). Amennyiben azonban valóban ennek eredményét látjuk, felmerül a kérdés, hogy ez a fajta csökkenés miért csak ennél a szolvens összetételnél jelenik meg, hiszen a 2. ábra alapján ettől eltekintve látszólag minden esetben magasabb értéket hozott a hőmérséklet emelése ebben a paraméterben. Az eltérés okának kiderítésére további vizsgálatok szükségesek.

A 25 V/V% etanol tartalommal rendelkező oldószerek jobbnak bizonyultak a 75 V/V%-os változatnál adott hőmérsékleten, valamint a tisztán vízzel végzett kivonásoktól is magasabb összes polifenol tartalmat hoztak, azonban eltekintve a 75 °C-on készített extraktumtól, továbbra is lényegesen alacsonyabb polifenol tartalommal rendelkeztek, mint az 50 V/V% etanollal készített társaik. ABATE és munkatársai (2021) korábban említett tanulmányában ez a koncentráció az alacsony molekulatömegű polifenolok esetében jelentette az 50 V/V%-os utáni legoptimálisabb közeget a kinyeréshez. Mivel ez a vegyületcsoport továbbra is az egyik legmeghatározóbb az a fehér ürömfű fenolos profilja szempontjából, ezért a korábbiakkal összhangban itt is nagyban meghatározza a TPC alakulását, egyben magyarázhatja az általam mért koncentrációk alakulásának okát. A 25 V/V% etanolt tartalmazó kivonatok közül az 55 és 75 °C-on készített kivonatok TPC-je között nem volt statisztikailag azonosítható különbség, egyedül a 35 °C-on készített minta rendelkezett az utóbbi kettőtől lényegesen alacsonyabb fenolos tartalommal. A 75 V/V%-os etanol esetében ez másképpen alakult: itt a 35 és 55 °C-on készített mintáknál lényegesen magasabb polifenol tartalommal rendelkezett, mint a 75 °C-on ultrahangozott minta. Ehhez képest a csak vízzel készített kivonatoknál valamennyi hőmérséklet között szignifikáns különbség állt fenn. A legalacsonyabb extraháló hatással a 35 °C-on készített kivonat bírt, $62,5 \pm 3,35$ mg/dm³ GAE-val pedig a csak etanolt tartalmazó szolvenssel extrahált minták utáni legalacsonyabb eredményt hozta. Az 55 és 75 °C-on ultrahangozott minták között egy szignifikáns növekedés volt megfigyelhető, a hőmérséklet emelésével párhuzamosan. A csak vízzel történő kivonással kapcsolatban jelentkező eredmények szintén megfelelnek a SENDI és munkatársai (2020), valamint ABATE és munkatársai (2021) korábbi megfigyeléseinek, ezek esetében is az etanolos-vizes elegyeknél alacsonyabb eredményeket produkáltak a vizes kivonatok.

MOACĂ és munkatársai (2019) Romániában gyűjtött fehér ürömfüvekből készítettek kivonatokat, 80 V/V%-os etanol felhasználásával, 60 perces ultrahangozás mellett, ami során a levelek esetén $54,68 \pm 1,93$ mg/g kivonat GAE, míg szár esetében $44,15 \pm 1,12$ mg/g kivonat GAE koncentrációt kaptak, vákuumbesűritést követően. BORA és SHARMA munkájukban (2011) *Artemisia absinthium* metanolos kivonatainak vizsgálata során $123 \pm 0,82$ mg/g kivonat GAE TPC-t rögzítettek, 20 órás Soxhlet-extrakciót és vákuum besűritést követően. Bár ezek az eredmények sokkal magasabbak az általam mért értékeknél, azonban fontos megjegyezni, hogy mindkét említett tanulmány az ultrahangozással segített kioldást követően további koncentráló műveleteket alkalmazott. Ilyen eljárások során természetesen számolni kell az oldatokban jelenlevő komponensek koncentrációnak növekedésével, ami megmagyarázza, hogy az általam mért értékekhez képest miért láthatunk ilyen nagymértékű eltérést az összes fenolos tartalomban. Mivel az én mintáim esetében nem került alkalmazásra olyan módszer, ami a kivonatok koncentrációt célozta volna, így ez a fajta eltérés reálisnak tekinthető.

Mivel a vizsgálatok egyik fontos célja volt az eljárás lehetséges szeszipari alkalmazásának vizsgálata, ezért kíváncsi voltam, hogy az általam nyert kivonatok fenolos tartalma hogyan alakul egy átlagos gyógynövénylikörhöz képest. Ehhez először az abszinttal végeztem összehasonlítást, DOČEKALOVÁ és munkatársainak (2024) munkájával, ahol egy 70 V/V% etanol felhasználásával, infúziós eljárással dolgoztak. Az említett ital TPC-je abban a munkában 55 ± 4 mg/dm³ GAE volt, ami legjobban az általam vízzel 35 °C-on extrahált, $62,5 \pm 3,36$ mg/dm³ GAE kivonatéhoz, ugyanakkor elmarad a legmagasabb $102,5 \pm 5,18$ mg/dm³ GAE extraktumhoz képest. ISSA-ISSA és munkatársai (2019) spanyol „Herbero” likörök vizsgálata során kereskedelmi forrásból származó minták esetében 72,0; 98,0; 121 és 142 mg/dm³ TPC értékeket rögzítettek, melyek lefedik eltekintve a 100 V/V% etanollal készített kivonatokat és összességében lefedik az általam kapott eredményeket. MRVČIĆ és munkatársai (2012) tanulmányában különböző alkoholos italok vizsgálata során a keserűliköröket is érintette. Az általuk megállapított átlagos összes polifenol tartalom ebben az italkategóriában $240,33$ mg/dm³ GAE-t volt, ami sokkal majd 2,5-szer akkora, mint az én esetemben kapott legmagasabb fenolos tartalom. A polifenol tartalom azonban itt is nagy változatosságot mutatott, a vizsgált italok TPC-je 90 és 350 mg/dm³ között mozgott. HANOUSEK ČIČA és munkatársai (2024) a Horvátország területén fehér fagyöngyből készített etanolos kivonatok vizsgálata során szintén hasonló koncentrációkra jutott, azonban

ott magasabb eredményekről is beszámoltak. Abban a munkában a TPC 25,51 és 790,89 mg/dm³ GAE között változott. Az utóbbi tanulmányok esetében fontos megemlíteni, hogy bár alapvetően valamennyi esetben a kivonás hagyományos macerációs eljárással történt, azonban a technológiai különbségek, valamint a felhasznált gyógynövények miatt ezek az eredmények nem szólnak az ultrahanggal segített extrakció hatásfoka ellen. Különböző gyógynövények, mint alapanyagok között egyébként is jelentős különbségek vannak polifenol tartalomra, illetve azok kinyerhetősége is eltérő lehet. Ennek nyomán szignifikáns különbségek még azonos áztatási paraméterek is megjelenhetnek (ISSA-ISSA et al., 2019; SENICA – MIKULIC-PETKOVSEK, 2019), nem beszélve a korábban említett regionális különbségeket a fenolos tartalomra az alapanyagban (MSAADA et al., 2015). A fentiek alapján megállapítható, hogy az ultrahanggal segített extrakcióval nyert kivonatok polifenol koncentrációja az adott extrakciós körülményektől függően, de alapvetően a gyógynövénylikőröknek megfelelő polifenol tartalmat eredményez.

Mind az általam nyert kivonatok, mind más, gyógynövénylikőrökre vonatkozó tanulmányok adatai alapján elmondható, hogy ezeket az italokat és kivonatokát bár számos cikkben aposztrofálják jó polifenol forrásként, azonban összességében nem rendelkeznek kimagasló TPC-vel. MRVČIĆ és munkatársainak (2012) korábban említett tanulmányában a keserűlikőrökre megállapított 240,33 mg/dm³ GAE-el szemben a gyümölcslikőrök összes fenolos tartalma átlagosan 1238,00 mg/dm³ volt, ami az előbbi érték majd 5-szöröse, általam mért legmagasabb, $102 \pm 5,18$ mg/dm³ GAE koncentrációnál pedig 12-szer magasabb. RØDTJER és munkatársai (2006) hasonlóan magas, 1525 ± 95 mg/dm³ GAE polifenol tartalomról számolnak be meggylikőrök esetében. A likőrök között a Folin-módszerrel alapján kiemelkedőnek mondható a zöld-dió-likőr TPC-je is, melyre vonatkozóan PETROVIĆ és munkatársai (2021) 2385 ± 18 mg/dm³ GAE-t mért Folin-módszerrel.

Más italkategóriákkal összehasonlítva sem beszélhetünk kimagasló értékekről sem a kivonatok, sem általánosságban a gyógynövénylikőrök esetében sem. Borok vizsgálata során FERNÁNDEZ-PACHÓN és munkatársai (2004) vörösborok esetében átlagosan 1262 és 2389 mg/dm³ GAE polifenol tartalomról számol be, így ezekhez képest is nagyságrendi különbségekről beszélhetünk, még a polifenolban a borkészítési technológiából fakadóan szegényebb fehérborok esetében is 200-400 mg/dm³ GAE tartományban mozogtak a tanulmányban vizsgált tételek eredményei. GUTTIÉREZ ESCOBAR és munkatársai (2021) tanulmánya ennél tágabb, vörösborok esetében 1000 és 5000 mg/dm³, míg fehérborok

esetében 200 és 500 mg/dm³ koncentrációkat nevez általánosnak. Ennek nyomán nem meglepő, hogy a gyógynövénykivonatokat használó likőrborok, vermutok esetében sem várható magasabb polifenol tartalom, hiszen a kivonatok hozzáadásával egyrészt, hígul a fenolokban gazdagabb alapbor, másrészt pedig a cukorsziruppal édesített változatok esetében további hígulással is számolni kell, ami még alacsonyabb fenolos tartalmat hoz létre. Ezt GORJANOVIĆ és munkatársai (2010) eredményei is megerősítik, akik vörös vermutok esetében $920,4 \pm 14,9$ mg/dm³ GAE TPC-t rögzítettek. Itt érdemes megemlíteni, hogy a borok és vermutok mellett, hogy több polifenolt tartalmaznak, a likőröknél alacsonyabb alkoholtartalommal rendelkeznek, ami borok esetében 7 és 17 V/V% (KÁLLAY, 2010) között alakul, vermutok esetében pedig általánosságban 17 és 22 V/V% között (MORATA et al., 2019), így ezekkel kapcsolatban kisebb mértékű potenciális egészségkárosító hatással lehet számolni, mint a likőröknél, melyek jellemzően ennél magasabb etanol tartalommal rendelkeznek.

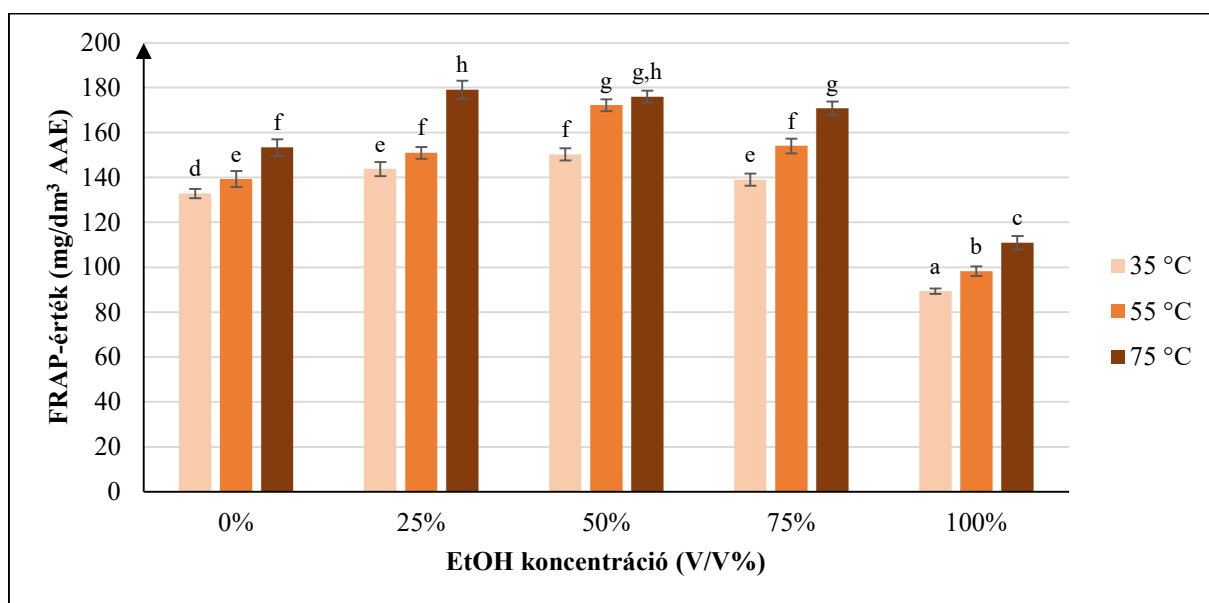
Egyedül a gyümölcs- és gabonapárlatoknál találkozhatunk alacsonyabb, illetve hasonló polifenol tartalommal, mivel ott a desztilláció során jelentős veszteségekkel kell számolni a bioaktív komponenseket illetően (ANTONY – FARID, 2022). GORJANOVIĆ és munkatársai (2010) szilvapárlatok esetében $8,4 \pm 0,9$ és $153,7 \pm 3,5$ mg/dm³ GAE, szőlőpárlatokat illetően $61,1 \pm 3,1$ és $327,4 \pm 1,8$ mg/dm³ GAE fenolos tartalomról számolnak be. MRVČIĆ és munkatársainak (2012) 6,32 mg/dm³ GAE átlagértékről számol be gyümölcspárlatok és vodkák vizsgálata alapján, hozzátéve, hogy fahordós érlelés hatására a hordókból kioldódó vegyületek miatt ez növekedhet. Ezek esetében szintén igaz, hogy szerény polifenol tartalmuk jelentős alkoholtartalommal párosul, így kiemelkedő bioaktív komponens tartalomról aligha beszélhetünk ezen italoknál.

4.2. A kivonatok FRAP-értékének értékelése

A FRAP-érték alakulását a 3. ábra szemlélteti. A diagram alapján is belátható, hogy az adatok alakulása hasonló volt az összes fenolos tartaloméhoz. Ez nem volt meglepő, hiszen a Folin-módszerrel történő összes polifenol tartalom meghatározás is egyfajta „redukáló erőt” mér. Mindkét módszer esetében igaz, hogy főleg a vízzoldható antioxidánsok mérhetőek vele (MUNTEANU – APETREI, 2021), amik közé a korábbiakkal összhangban az alacsony

molekulatömegű polifenolok és a fenolsavak is tartoznak, és amik egyben a legmeghatározóbb vegyületek az ürömfű fenolos komponensei között (ABATE et al., 2021).

Ennek megfelelően várható volt, hogy az eredményeket illetően „irányadók” lesznek a fenolos tartalom alakulásának vizsgálata során látottak. Ebben az esetben is igaz volt, hogy az etanol tartalom növelésével általánosságban hatékonyabb volt az antioxidánsok kivonása, azonban az ábra alapján is szembetűnő, hogy a vizet és etanolt egyaránt tartalmazó szolvensek között a magasabb hőmérsékleten végzett ultrahangos kezelések bizonyultak leghatékonyabbnak. A hőmérséklet növelésének antioxidáns kapacitásra gyakorolt hatását korábban már megfigyelték teák esetében, ARIFFIN és munkatársai (2011) teák különböző hőmérsékleteken történő főzése során a FRAP-érték növekedését figyelték meg, a hőmérséklet emelésével párhuzamosan, 60, 80 és 100 °C-on. Noha a hőmérséklet emelése alapvetően macerációs eljárásoknál a magasabb, 120-150 °C hőmérsékleteken lezajló, polifenolokat érintő oxidációs folyamatok miatt csökkenést idézhet elő az antioxidáns kapacitás tekintetében (ANTONY – FARID, 2022), azonban valószínűleg a mintáim és a korábban említett tanulmányban a vizsgált hőmérsékletek még inkább segítik a növényi sejtek antioxidáns tartalmának feltárását (OREOPOULOU et al., 2019).



3. ábra: A minták FRAP-értékének alakulása (az azonos betűkkel jelölt oszlopok esetén nincs szignifikáns különbség, $p > 0,05$)

Forrás: Saját forrás

A legalacsonyabb eredményt itt is a 100 V/V%-os etanollal extrahált minták hozták, amik ebben az esetben is valamennyi mintához képest szignifikánsan alacsonyabb FRAP-

értékkel rendelkeztek, azonban ezek jelentősen eltértek egymástól. A leghatékonyabbnak ezeken belül itt is a 75 °C-on végzett kezelés bizonyult, ennek értéke $133 \pm 2,05 \text{ mg/dm}^3$ AAE volt. Elmondható, hogy a 100 V/V% etanollal készített FRAP-értéke között bár volt statisztikailag igazolható különbség, azonban továbbra sem beszélhetünk olyan hirtelen csökkenésről, mint a TPC esetében. Ott a 100 V/V% etanol alkalmazása során a TPC ötödére csökkent, a 75 V/V% etanolt tartalmazó szolvens alkalmazása során, azonban ehhez képest a FRAP-érték vonatkozásában a két oldószerösszetétel között még félszeres eltérést sem láthatunk. Az extrakció során használt szolvens etanol koncentrációjával kapcsolatosan az irodalomban is találunk hasonló eredményeket. HIJAZI és munkatársai (2015) *Eryngium creticum* szárítmányok etanolos extrakciójánál szintén arról számolnak be, hogy a legalacsonyabb FRAP-értéket 100 V/V% etanolt tartalmazó oldószer alkalmazásával érték el, míg a 80 és 40 V/V% etanol tartalom mellett ennél magasabb antioxidáns kapacitásokat rögzítettek. GENTSCHEVA és munkatársai (2021) házi kövirózsa (*Sempervivum tectorum*) etanolos kivonatainak vizsgálatánál szintén hasonló következtetésekre jutott, a legalacsonyabb FRAP-értéket itt is 95 V/V% etanol tartalmú oldószer jelentette, mind a 10 V/V%, mind az 50 V/V% etanol alkalmazása jobb eredményeket produkált. Az említett tanulmányban a legmagasabb értéket az 50 V/V% etanol képviselte. Abban a kutatásban szintén ezt az antioxidáns hatást nagyban meghatározó polifenolok extrahálhatóságával magyarázták.

A legmagasabb koncentrációkat a FRAP-érték vonatkozásában is 25, illetve 50 V/V% etanol tartalmú oldószerrel nyertem, 75 °C hőmérsékletet alkalmazva az ultrahangozás során. Ezek közül a 25 V/V%-os szolvens hozta valamennyi minta közül a legmagasabb, $179 \pm 4,11 \text{ mg/dm}^3$ AAE FRAP-értéket, azonban eközött és az 50 V/V%-os szolvens között nem volt szignifikáns különbség. Elmondható ugyanakkor, hogy ettől eltekintve itt is az 50 V/V% etanol tartalmú szolvens bizonyult a leginkább hatékonynak, mivel ez a 35 °C és az 55 °C-on végzett kivonások esetében is jobb eredményt hozott, mint a 25 vagy 75 V/V%-os minták. Érdekes ugyanakkor, hogy bár polifenol tartalom vizsgálata során azt találtam, hogy az 55 °C végzett kivonás az 50 V/V%-os etanol tartalmú oldószer alkalmazásával lényegesen kedvezőbb fenolos tartalmat hoz, mint annak 75 °C-on végrehajtott változata, addig ez antioxidáns kapacitásban nem jelenik meg. Míg 50 V/V% etil-alkoholnál 55 °C-on készített kivonat $172 \pm 2,58 \text{ mg/dm}^3$ AAE FRAP-értékkel rendelkezett, addig ezzel szemben a 75 °C-on az antioxidáns kapacitás magasabb, $176 \pm 2,72 \text{ mg/dm}^3$ AAE volt, igaz a két említett minta közötti differencia nem nevezhető statisztikailag jelentősnek.

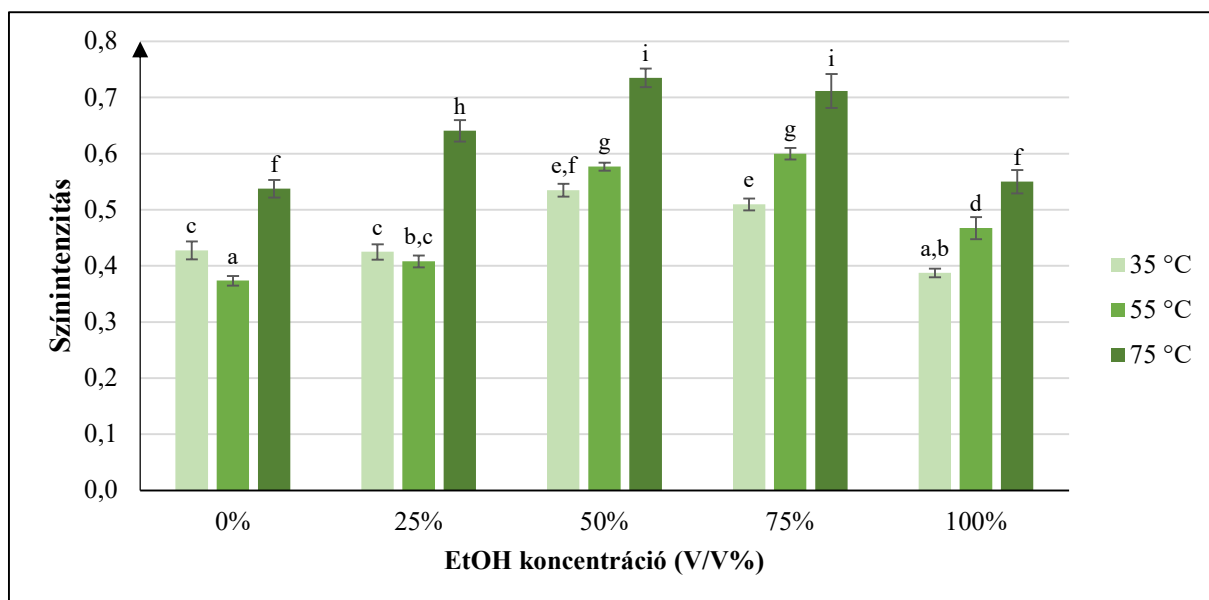
Fontos megjegyezni, hogy bár a FRAP-értéket nagyban befolyásolja a fenolos tartalom alakulása, hiszen elsősorban ezek a vegyületek jelentenek redukáló képességgel a kivonatokban, azonban az egyes polifenol komponensek szerkezeti sajátosságai, továbbá a két módszerben alkalmazott reakció körülmények miatti különbségek nyomán összességében egyáltalán nem garantált, hogy az egyik módszerben látott differenciák közvetlenül befolyásolják a másikkal meghatározott paraméterek alakulását. ALCALDE és munkatársainak (2019) megfigyelték, hogy míg egyes hidroxibenzoésav származékok esetében például a Folin-módszerrel meghatározott TPC jól követi a FRAP-érték alakulását, addig másoknál ez teljesen ellentétesen alakul, ami természetesen okozhat a jelen munkában bemutatottokhoz hasonló kisebb eltéréseket.

A 75 °C-on végzett kivonástól eltekintve elmondható, hogy a 25 és 75 V/V% etanol alkalmazásával készített kivonatok között nem álltak fent szignifikáns különbségek, adott hőmérsékleten belül. Itt is igaz volt, hogy a hőfok növelése magasabb FRAP-értéket eredményezett, ami ismételtén jó eséllyel a polifenolok, mint antioxidánsok extrakciójának segítése miatt alakulhatott így. Erre a hő a növényi sejtek feltárása miatt összhangban a korábbiakkal pozitív hatást gyakorol bizonyos határok között (OREOPOULOU et al., 2019), a korábbiakban részletezett molekuláris diffúzióra gyakorolt hatása, valamint a kioldott komponensek oldhatóságának növelése révén is. Kisebbségek fordultak elő csupán az adott hőmérsékleten belül, amik nem követtek mindenhol azonosítható trendet.

A tisztán víz alkalmazásával készített kivonatok adott hőmérsékleteken belül valamennyi esetben lényegesen alacsonyabb FRAP-értéket hoztak, mint a 25, 50 és 75 V/V% etanolt tartalmazó társaik, azonban még így is lényegesen magasabb eredményekkel rendelkeztek, mint szolvensként csak etanolt alkalmazó extraktumok, hasonlóan az összes polifenol tartalom alakulásának vizsgálata során bemutatott eredményekhez, ami ismét a TPC és FRAP módszer mérési elvében rejlő hasonlóságokkal magyarázható, valamint az kivonatok fenolos profiljával. A 35 °C ilyen eljárással készített kivonat a csak etanolt tartalmazókat leszámítva valamennyi mintához képest lényegesen alacsonyabb, $111 \pm 2,96$ mg/dm³ AAE FRAP-értékkel rendelkeztek.

4.3. A kivonatok színének értékelése spektrofotometrián

A színintenzitás alakulását az 4. ábra szemlélteti. A színintenzitás az „Anyag és módszer” fejezetben leírtak szerint a 420, 520 és 620 nm-en mérhető abszorbancia alapján lett meghatározva. Az értékek alakulását itt leginkább az befolyásolja, hogy az ezeken a hullámhosszokon (vagy azok közelében) mely komponensek rendelkeznek abszorpciós maximumokkal, illetve ezek a komponensek mennyire nyerhetők ki a növényi szövetekből.



4. ábra: A minták színintenzitásának alakulása (az azonos betűkkel jelölt oszlopok esetén nincs szignifikáns különbség, $p > 0,05$)

Forrás: Saját forrás

Az ábra alapján is belátható, hogy az eredmények alakulása részben itt is az összes fenolos tartalomhoz, valamint a FRAP-értékhez hasonlóan történt. Ennek egyik oka, hogy a polifenolok között találunk színes vegyületeket is, melyek ilyen módon jelenlétükkel hozzájárulnak a színintenzitás alakulásához, amit természetesen nagyban befolyásol, hogy ezeket mennyire lehet feltárni. Ilyenek lehetnek például a flavonoidok egyes csoportjai, melyek közül az antocianinok, mint vörös színt adó, színezékként is alkalmazott vegyületek a legismertebbek, ugyanakkor a vegyületcsoportban számos sárgás színű anyag is előfordul, mint például az apigenin vagy a kalkonok (KESERKAR et al., 2009). A másik kérdést a színintenzitás szempontjából a növényekben előforduló, fotoszintetikus pigmentek és azok feltárhatósága jelentette, mint például a zöld színű klorofillek. Ezek kinyerése során a kloroplasztizok membránjának permeabilitásának növelése a cél, amely egy fehérje-lipid réteget takar (MIAZEK – LEDAKOWICZ, 2013).

A legalacsonyabb koncentrációkat ebben az esetben a tisztán etanol tartalmú oldószerek közül egyedül a 35 °C-on végzett extrakció hozta, ami nem tért el lényegesen a valamennyi minta vonatkozásában legalacsonyabb színintenzitású, tisztán vízzel 55 °C-on extrahált kivonattól, valamint a 25 V/V% etanollal, szintén 55 °C-on készítettétől sem. Érdekes, hogy ezek alacsonyabb, 35 °C-on extrahált változatai lényegesen magasabb színintenzitás értékeket képviseltek, annak ellenére, hogy a hőmérséklet emelése összhangban a korábbiakkal növeli a sejtek permeabilitását (OREOPOULOU et al., 2019)., ebből fakadóan segíti onnan a pigmentek kioldását is. Ennek okának kiderítésére további vizsgálatok szükségesek. Az 55 °C-on készítetteknél igaz volt, hogy a 100 V/V% etanol tartalmú oldószer magasabb színintenzitást hozott, mint a 0 vagy 25 V/V%-al készített változatok. Ez várható volt, mivel ilyen szolvensösszetételek mellett kevés pigment vonható ki növényi mintákból. GENTSCHEVA és munkatársai (2021) korábban említett kövirózsás tanulmányában például míg a klorofill tartalom 10 V/V% etanol alkalmazásával méréstartomány alatti értékeket hozott, addig az oldószer etanoltartalmának 50-ről 90 V/V%-ra növelése a pigment mennyiségét 15-szörösére növelte, ami magyarázhatja az intenzitásban jelentkező különbségeket, illetve az ilyen koncentráció mellett készített kivonatok halvány zöld színét is. Az alacsonyabb, 35 °C-on készítetteknél azért valószínűleg az azért nem jelenik meg, mert ez a hőmérséklet enyhébb feltárását biztosít, másrészt pedig ezen a hőfokon alacsonyabb a klorofillek oldhatósága, ahogyan azt PUTRA és munkatársai (2017) csavarpálmából készített kivonatokon végzett vizsgálatait is megerősítették.

A 75 °C-on extrahált kivonatok valamennyi esetben szignifikánsan magasabb CI-értékeket hoztak, mint az azonos szolvens összetétel mellett 35 vagy 55 °C-on készített változataik. A 100 V/V% etanolos oldószer alkalmazásával ezen a hőmérsékleten készített kivonat és a 0, valamint 25 V/V% változatok esetében különösen érdekesen alakult. A korábbiakkal összhangban itt a 100 V/V% esetében várhatóan több, a méréshez használt hullámhosszokon jobban abszorbeáló pigment kivonására lehetett számítani, ami teljesült az 55 °C-on végzett kivonások során. Ennek ellenére a vízzel készített kivonattal szemben statisztikailag jelentős különbség nem fordult elő, míg a 25 V/V% etanollal készítettéknél lényegesen magasabb CI-értékeket kaptam. A 75 °C-os hőmérséklet alkalmazása során számolni kell a polifenolok egyes csoportjait érintő oxidációs mechanizmusok katalízisével, amik a molekulaszervezet megváltozásával az UV-látható tartományban az abszorpciót is megváltoztatják, ilyen módon pedig a fentebb részletezett módszerrel történő

színintenzitásmérést is érintik. Borok vizsgálata során PEREIRA és munkatársai (2013) megfigyelték, hogy az érlelés gyorsítására használt hő jelentős növekedést eredményezhet egyes tételeknél a 420 nm-en mérhető abszorbanciában, az így keletkező sárgás-barna színű vegyületekkel magyaráztak. Ezek különösen a fehérborokban és az ABATE és munkatársai (2021) tanulmánya alapján ürmöfű kivonatokban is jelentős mennyiségben előforduló, alacsonymolekulatömegű fenolsavak, valamint egyes flavonolokat érinti. Ennek nyomán elképzelhető, hogy itt is ezek oxidációját láthatjuk, hiszen ezek kivonására ABATE és munkatársainak (2021) tanulmánya alapján etanol hiányában vagy alacsonyabb koncentrációi mellett is lehetőség van. Hosszabb idejű ultrahangos kezelések mellett ezek az oxidációs folyamatok valószínűleg felgyorsulhatnak, a vízgőzben lévő vízmolekulákból lejátszódó gyökképződés miatt (VINATORU et al., 2017). Emellett szól, hogy a 75 °C-on készített kivonatok esetében külön vizsgálva a 420 nm-en mért abszorpciót jelentősen magasabb értékeket kaptam, mint más hőmérsékleteknél, azonban a pontos folyamatok felderítésére további vizsgálatok szükségesek.

A legmagasabb CI-értékek az 50, illetve a 75 V/V% etanol alkalmazásával nyert mintákhoz tartoztak adott hőmérsékleteken belül, melyek között szignifikáns különbséget egyetlen esetben sem lehetett azonosítani. Ez az etanol tartalom egyrészt a legtöbb fenolos vegyületek kivonásához is megfelelő viszonyokat teremt, másrészt pedig korábbi tanulmányok alapján kedvezőbb lehet a klorofillek kivonásához is, mint a tiszta etanol alkalmazása, ahogyan arról KONG és munkatársai (2012) is beszámolnak *Chlorella vulgaris* kivonatok készítésénél. Ezek hatékonyabb kivonása egyrészt megmagyarázza a tiszta etanollal készített extraktumok közti különbséget, másrészt a 0 és 25 V/V% etanol tartalmú szolvensekkel készítettekkel szembenieket is, mivel ilyen koncentrációk alkalmazásával a színintenzitást befolyásoló fotoszintetikus pigmentek kioldására nincs, vagy csak korlátozottan van lehetőség. A 35 °C-on végzett kivonásnál itt is jobb eredményt hozott az 55 °C-on végzett, ami a korábbiakhoz hasonlóan itt is a hatékonyabb extrakcióval és annak az előzőekben kifejtett okaival magyarázható. Az előzőekben kifejtett polifenol oxidációval kapcsolatos mechanizmusok természetesen ezen kivonatokra is érvényesek, egyben magyarázhatják itt is a 75 °C-on mért szignifikánsan magasabb CI-értékeket az említett etanol-víz arányú elegyek esetében.

A kivonatok árnyalatát illetően megállapítható, hogy a legmeghatározóbb a sárgaként (Y%) aposztrofált 420 nm-en mérhető abszorbancia értékei voltak valamennyi minta

esetében, mely 66,7 és 81,4% között változott. Az alacsonyabb értékek jellemzően az alacsonyabb (0 és 25 V/V%) etanol tartalmú szolvensekhez tartoztak, míg az etanol tartalom növelése valamennyi hőmérsékleten belül a sárga (Y%) árnyalat szignifikáns növekedését eredményezte, ami valamennyi minta viszonylatában teljesült a hőmérséklettől függetlenül. Ebben az esetben jó eséllyel a 420 nm-en való abszorbancia növekedését a kezdetben az etanol tartalommal egyre jobban kivonható sárgás színű polifenoloknak, valamint azok oxidált származékainak tudható be. A későbbiek folyamán ezek mellé egyéb, magasabb etanol tartalom mellett jobban kivonható pigmenteknek megjelenése jelenthet reális magyarázatot, mint amilyenek a klorofillek vagy a karotinoidok. Ezek növelik a 420 nm-en mérhető abszorbanciát, mivel ebben a tartományban jó fényelnyeléssel rendelkeznek, akárcsak magasabb hő hatására belőlük kialakuló feofitinek (KANG et al., 2018).

A vörös (R%) árnyalat ezzel szemben egy éppen ezzel ellentétes tendenciát követett. Itt az etanol tartalom növelésével párhuzamosan csökkent a minták 520 nm-en mérhető abszorbanciájának részaránya. Ennek értéke itt 8,17 és 22,2% között alakult. Ebben az esetben egy, a sárga (Y%) árnyalattal ellentétes trend volt megfigyelhető. Itt az árnyalat értéke fokozatosan, szignifikánsan csökkent az etanol tartalom növelésével, függetlenül az alkalmazott hőmérséklettől. Noha ehhez a tendenciához természetesen hozzájárul a 420 nm-en mérhető abszorbancia növekedése is ezzel ellentétes módon, azonban érdekes kérdés, hogy pontosan milyen komponensek kioldódása okozhat ilyen jellegű változást. Alapvetően ezen a hullámhosszan vöröses színű vegyületek, leginkább antocianinok rendelkeznek fényelnyeléssel. Ezek azonban ABATE és munkatársai (2021) eredményei alapján éppen ellenkező módon vonhatók ki, abban a tanulmányban az etanol tartalom növelése segített az említett komponensek kioldását, ami sem az árnyalatban, sem az 520 nm-en mért abszorbanciában nem jelentkezett a kivonataimnál. Ugyanakkor az ürömfű proantocianidinekben, azaz kondenzált tanninokban gazdagnak tekinthető (LUTGEN, 2018). Ezek vegyületek hő hatására vörös színű pigmentekké alakulhatnak, melyek megjelenése az oldatban az 520 nm-en mérhető abszorbancia növekedésében is megnyilvánul, ahogyan azt HAMAUZU és munkatársai (2007) birskivonatok esetében is megfigyelték. Így elképzelhető, hogy az én esetemben is erre vezethető vissza az 520 nm-en mérhető. Emellett az elmélet mellett szól, hogy az én esetemben az 520 nm-en mérhető abszorbancia valamennyi kivonat esetében lényegesen magasabb volt 75 °C alkalmazása során, illetve a legnagyobb abszorbancia értékek ezek közül a 25 és 50 V/V% etanol alkalmazásával készített

extraktumok esetében voltak mérhetőek 520 nm-en. Az említett vegyületek kivonásához korábbi szőlőn végzett vizsgálatok alapján ezek a koncentrációk jelentik a legoptimálisabb szolvensösszetételt, az etanol tartalom további növelése már rontja a kinyerhető proantocianidin mennyiséget (MONRAD et al., 2009). A kivonatok vörös (R%) árnyalatában valószínűsíthetően ez azért nem követi le az etanol koncentráció alakulását, mivel lényegesen több 420 nm-en abszorbeáló komponens kerül ezeknél kivonásra, másrészt pedig 75 és 100 V/V% esetén már jelentős a szintén itt jelentős abszorpcióval rendelkező klorofillek és feofitinek extrakciója, amik csökkentik a vörös (R%) arányát, mellette pedig az etanol tartalom növekedés miatt az említett proantocianidinek kivonásának hatékonysága is csökken. Ennek pontos mechanizmusaira további vizsgálatokra van szükség.

A kék (B%) árnyalat határozta meg legkevésbé a minták színét, értéke 6,42 és 12,0% között mozgott. Ezen a hullámhosszon leginkább csak egyes antocianinok fémionokkal alkotott komplexei rendelkeznek jelentősebb elnyeléssel, valamint a delfinidin és annak származékai (MŁODZIŃSKA, 2009), amelyek egyébként az ürömfű esetében is kimutathatóak ABATE és munkatársainak (2021) tanulmánya alapján. Ugyanakkor érdemes megemlíteni, hogy a klorofillek kioldódása is okozhatja a 620 nm-en mérhető abszorbancia növekedését, azonban ezek abszorpciós maximummal inkább 660 nm környékén rendelkeznek. Itt nem beszélhetünk egyenletes, minden mintára érvényes trendekről, azonban a 35 °C-on készített kivonatoktól eltekintve igaz volt az árnyalati érték folyamatos csökkenése az etanol tartalom növeléssel párhuzamosan, amit feltehetően a sárgás és vöröses pigmentek jobb kivonhatósága és nagyobb mennyisége okozott. Ugyanakkor az 55 és 75 °C-on készített extraktumoknál a 100 V/V% etanolnál egy éles növekedés következett be az árnyalati értékek növekedésében, ami a klorofillek és feofitinek abszorpciójával magyarázható. Mivel azonban ez a klorofillek kivonásához szintén eredményesen használható 75 V/V% etanol alkalmazásánál nem jelenik meg, ezért itt indokolt lehet további vizsgálatok végzése.

Az értékeim a kék (B%) közelítőleg megfeleltek a CRAVALHO és munkatársai (2011) által különböző *Artemisia*-fajok esetében megadott árnyalat értékeknek. A kék (B%) árnyalatnál abban a munkában 18,06 és 33,83% között mozogtak. Ezt egyrészt a növényfajok közötti különbségek is okozhatják, tekintve, hogy az a kutatás nem terjedt ki a fehér ürömfűre, továbbá a metanol, mint oldószer alkalmazása, ami a klorofillek, mint ezen a hullámhosszon abszorbeáló vegyületek kivonásához más munkákban lényegesen hatékonyabb szolvensként volt alkalmazható, mint az általam használt etanol (KONG et al., 2012).

4.4. A kivonatok színének értékelése digitális képfeldolgozásra alapozott mérésekkel

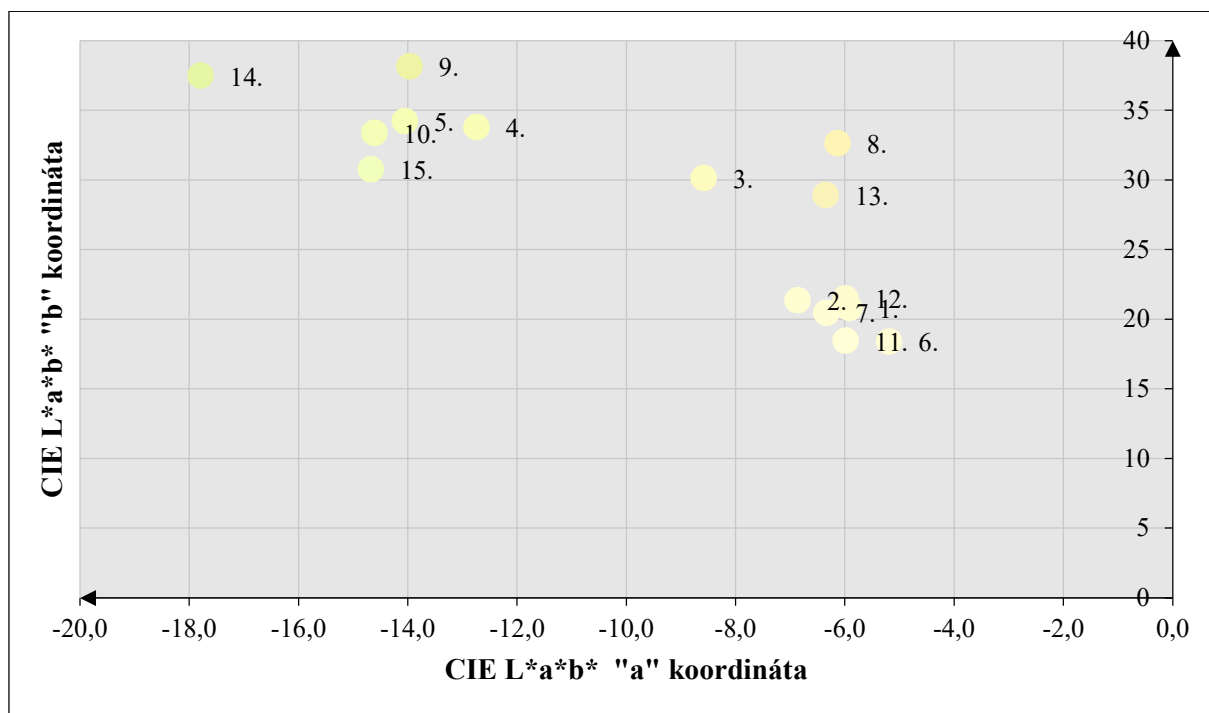
1. táblázat: A minták átlagos RGB-színének bemutatása

35 °C 0 V/V% EtOH 1.	35 °C 25 V/V% EtOH 2.	35 °C 50 V/V% EtOH 3.	35 °C 75 V/V% EtOH 4.	35 °C 100 V/V% EtOH 5.
55 °C 0 V/V% EtOH 6.	55 °C 25 V/V% EtOH 7.	55 °C 50 V/V% EtOH 8.	55 °C 75 V/V% EtOH 9.	55 °C 100 V/V% EtOH 10.
75 °C 0 V/V% EtOH 11.	75 °C 25 V/V% EtOH 12.	75 °C 50 V/V% EtOH 13.	75 °C 75 V/V% EtOH 14.	75 °C 100 V/V% EtOH 15.

Forrás: Saját forrás

Az 1. táblázat a különböző extrakciós paraméterekkel nyert oldatok színeit mutatja be, a digitális képelemzés alapján kapott átlagos RGB-koordináták által reprezentált színek segítségével, míg az 5. ábrán a táblázatban található sorszámok szerint a színek CIE $L^*a^*b^*$ színtérben ábrázolva, az „a” koordináta (zöld és vörös), valamint a „b” koordináta-tengelyek közötti pontokként (sárga és kék) megadva. Az ábra alapján látható, hogy a CIE $L^*a^*b^*$ koordináták alapján ábrázolva jól elkülöníthetők egymástól a különböző etanol tartalommal készített minták, míg egyes pontoknál a hőmérsékletek szerint is elválaszthatók. Hőmérséklettől függetlenül külön csoportot alkotnak azon minták például, melyek elkészítéséhez 0 és 25 V/V% etanolt használtam (1-es, 2-es, 6-os, 7-es, 11-es és 12-es pontok). Ezek a vörös-zöld (a) sárga-kék (b) tengely mentén az alacsonyabb koordináta értékeket foglalják el, a többi mintához képest jobban közelítenek az origóban található fehérhez, ami halvány kevésbé intenzív színükkel hozható összefüggésbe. Ezek és „b” értéke valamennyi mintához képest szignifikánsan alacsonyabb. Ehhez képest az sárga színt kölcsönző vegyületekben feltehetően gazdagabb 50 V/V% etanollal készített kivonatok (3-as, 8-as és 13-as pontok) ennél lényegesen magasabb értékek mentén helyezkednek el a „b” tengely mentén, ami látható az 1. táblázatban is megmutatkozó élénkebb színükben, azonban az „a” érték tekintetében ezek nem különböztek lényegesen a 0 és 25 V/V% etanollal készített társaiktól, ami korábbiakkal összhangban a kivonható színanyagok mennyiségével áll

kapcsolatban. A 75 és 100 V/V% (4-es, 5-ös, 9-es, 10-es, 14-es és 15-ös pontok) etanollal készített kivonatok szignifikánsan magasabb „a” értékei a zöld szín élénkedésére utalnak, ami a magasabb etanol koncentráció hatására egyre jobban kivonható klorofill mennyiségével magyarázható, összhangban a korábbiakban bemutatott irodalomban ezzel kapcsolatosan fellelhető ismeretekkel. Ezek közül különösen élénk zöld a 14-es számú pont, ami ismételten a zöld pigmentek kihozatalával magyarázható.



5. ábra: **Minták ábrázolása CIE L*a*b* alapú koordináta rendszerben**

Forrás: Saját forrás

Az ábra alapján is jól látható, hogy a legélénkebb zöldek színek a 75 és 100 V/V% etanol tartalmú kivonatoknál érhetők el, azaz ezeknél érvényesül a legjobban a klorofill színező hatása, amely például az abszint gyártás során kifejezetten kívánatos. Ugyanakkor jelenleg az abszint színére vonatkozó mérhető módon definiált színre vonatkozóan nincs előírás, csupán a halvány zöld-zöld szín az elvárás, melyet az én esetemben ezek a kivonatok tudnak teljesíteni, egyben ezzel megfelelve az abszint gyártása során tradicionálisan alkalmazott koncentrációknak (LACHENMEIER et al., 2006). A vermutok készítése során bár a gyógynövények által kölcsönzött színnek nincs nagy jelentősége, hiszen ott azt az alapbor vagy a karamellszirup jobban meghatározza (MORATA et al., 2019), ugyanakkor kellemetlen, fáradt színek megjelenéséről itt sem lehet beszélni. Így megállapítható, hogy az UAE-val nyert etanos kivonatoknál nem lépnek fel nem kívánt színhatások.

4.5. A korrelációvizsgálat eredménye

A paraméterek közötti lehetséges összefüggések feltárása érdekében korreláció vizsgálatot végeztem, melynek eredményét a 2. táblázat mutatja be.

2. táblázat: **Pearson-féle korrelációs együtthatók alakulása a paraméterek között**
(*=**szignifikáns kapcsolat** $p<0,05$; **=**szignifikáns kapcsolat** $p<0,01$)

	TPC	FRAP	CI	Y%	R%	B%	L*	a*	b*
TPC	1,00								
FRAP	0,924**	1,00							
CI	0,408**	0,664**	1,00						
Y%	-0,378	-0,364	0,122	1,00					
R%	0,602**	0,529**	-0,079	-0,946	1,00				
B%	-0,594	-0,426	-0,145	-0,314	-0,012	1,00			
L*	-0,207	-0,377	-0,69	-0,514	0,410**	0,384**	1,00		
a*	0,537**	0,419**	-0,196	-0,802	0,860**	-0,043	0,444**	1,00	
b*	-0,233	-0,146	0,403**	-0,915	-0,863	-0,292	-0,714	-0,816	1,00

Forrás: Saját forrás

A táblázat alapján látható, hogy változó erősségű kapcsolatok álltak fenn az egyes paraméterek között. CIE L*a*b* és spektrofotometriásan mért színnel kapcsolatos Y%, R% és B% közötti erős kapcsolatok az irodalomban is ismertek (KONTOUDAKIS et al., 2010), egyben érthetőek is, hiszen ezek a mérések alapvetően mindkét esetben az emberi szem számára látható árnyalatok leírására szolgálnak, ami kapcsán a spektrofotometriásan meghatározott sárga, vörös és kék színek az RGB-hez hasonló rendszerként is értelmezhetők.

Szintén ismertnek tekinthető FRAP-érték és az összes fenolos tartalom (TPC) közötti $r=0,924$ -es erős korrelációra, ami mögött ismét a két mérési módszer elvi hasonlóságait láthatjuk, azaz a hasonlóképp értelmezett „redukáló erő” mérését különböző anyagok segítségével (MUNTEANU – APETREI, 2021). Az ürömfű esetében ezek azért követik le ilyen jól egymás alakulását, mivel a fenolos tartalom nagyrésze vízzoldható polifenolokból áll, melyeket a FRAP-módszerrel jól lehet mérni.

5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Összességében a dolgozat keretein belül sikerült bizonyítani, hogy az ultrahanggal segített extrakció alkalmas lehet ürömfűkivonatok elkészítésére, ezzel jelentősen lerövidítve a macerációs technika során szükséges időt, igazodva napjaink élelmiszeriparának felgyorsult üteméhez. Ugyanakkor az eljárás kapcsán fontos megemlíteni, hogy ez ahhoz képest egy továbbra is energiaigényes technikának számít, ugyanakkor viszonylag egyszerűen kivitelezhetőnek is mondható bioaktív komponensek és színanyagok szempontjából (VINATORU et al., 2017).

Az elvégzett vizsgálatok alapján ezzel a technikával a legoptimálisabb antioxidáns tartalom összességében 50 V/V% etanol és 55 °C alkalmazásával érhető el, azonban ebben a FRAP-érték alakulásánál feltárt eltérések pontos magyarázata miatt további vizsgálatok szükségesek, melyek kvalitatívan vizsgálják a fenolos tartalom alakulását az egyes kivonási eljárások során, illetve olyan egyéb bioaktív komponensekre is kiterjednek. Ilyen például az artemizinin mennyiségének alakulása. Célszerűnek tartom az ultrahanggal segített extrakcióval nyert kivonatok aromaprofiljának műszeres és érzékszervi vizsgálatát is a későbbiekben, hiszen ez további kulcskérdés a szeszipari hasznosítást illetően a későbbiekben. Ezzel kapcsolatosan előre bocsájtható, hogy összehasonlítva más módszerekkel, ez az eljárás továbbra is hő szempontjából szabályozható módon és alacsony melegedéssel dolgozik (VINATORU et al., 2017), így az aromaprofil feltehetően nem károsodik nagy mértékben, természetesen ennek igazolása csak megfelelő analitikai módszerekkel igazolható.

Ugyanakkor a bioaktív komponensek kinyerése kapcsán az is feltárásra került, hogy önmagukban ezek a kivonatok a TPC és FRAP-értékek alapján nem nevezhetők kiemelkedő összetételűnek és semmiképpen sem aposztrofálhatók funkcionális élelmiszerként, legalábbis likőrripari felhasználás tekintetében, már a kivonásokhoz szükséges etanolkoncentrációk miatt sem. Az elvégzett összehasonlítások alapján elmondható, hogy mind az általam nyert kivonatok, mind általánosságba véve a gyógynövénylikőrök sem rendelkeznek kiemelkedően magas fenolos tartalommal, ebből fakadóan pedig várhatóan antioxidáns kapacitásuk sem nevezhető annak. Ugyanakkor természetesen tartalmazhatnak olyan, a gyógyszeripar vagy a funkcionális élelmiszerfejlesztés számára nélkülözhetetlen anyagokat, melyek miatt az ezzel

kapcsolatos vizsgálatokat továbbra is folytatni szükséges, illetve egyéb feltörekvő extrakciós eljárásokra is ki kell terjeszteni ezeket.

A korábbiakkal összhangban az ürömfű egyik gyakori felhasználása az abszintgyártás, azon belül is az ital egyik nélkülözhetetlen természetesen színezéke klorofill tartalma miatt. Méréseim alapján ebben az esetben a jelenleg is alkalmazott töménységekbe beilleszthető 75 és 100 V/V% etanol tartalmú szolvensek alkalmazása a legkedvezőbb, mellyel a legintenzívebb színek a 75 V/V%-os etanol-víz aránnyal érhetők el. A hőmérséklet alkalmazása ebben az esetben is javíthatja a folyamatok hatékonyságát, azonban az abszorbanica értékek alakulásai alapján a magasabb, 75 °C hőmérséklet alkalmazása során átalakulásokkal kell számol a színanyagokat illetően. A vizsgálatok során idegen, az ilyen termékekre nem jellemző szín csak alacsony etanol koncentrációk esetén keletkezett, melyek inkább csak a vermutok és likőrök gyártása során fordulnak elő, ahol a növény fő funkciója nem a színezés. Ezen a területen a kivont színanyagok stabilitás vizsgálataira kell kiterjesztenem a későbbiekben folytatandó kísérleteket, illetve ezek esetében is további, népszerűsödő feltárási technika alkalmazhatóságát megvizsgálni, illetve összevetni a mostani kutatás keretein belül szerzett tapasztalatokkal.

ÖSSZEFOGLALÁS

Az élelmiszeripar az ókortól kezdve egyik fő felhasználója a gyógynövényeknek, melyek közül a szeszipar és a borászat különösen régóta számít felvevőnek. A gyógynövények feldolgozásának egy tradicionális módszere a maceráció, azaz a vizes-alkoholos extrakció, melynek napjainkra számos új, hatékonyabb megvalósítása alakult ki.

Dolgozatomban ezek közül az ultrahanggal segített extrakció (UAE) hatásait vizsgáltam fehér ürömfű kivonatok antioxidáns tartalmára, valamint a keletkezett oldatok színére, az összes polifenol tartalom (TPC) és a FRAP-értékben kifejezett antioxidáns kapacitás mérésnek segítségével, továbbá spektrofotometriás és digitális képekre alapozott színelemzési technikák segítségével. A vizsgálatok célja az volt, hogy ismertessem ennek az eljárásnak a kivonatok említett paramétereire gyakorolt hatásait, és így értékelni tudjam az eljárás alkalmazhatóságát szeszipari és borászati termékek előállításának oldaláról, különböző oldószerösszetételek és kivonási hőmérsékletek alkalmazása mellett.

Méréseim alapján az UAE alkalmazásával előállított kivonatoknál a legoptimálisabb polifenol tartalom elérésére 50 V/V% etanol tartalom, valamint 55 °C hőmérséklet alkalmazása javasolható, ugyanakkor antioxidáns kapacitás esetében ez 75 °C-on magasabb FRAP-értékekkel rendelkező oldatokat tudtam nyerni. Mindkét paraméter tekintetében elmondható, hogy a tiszta etanol alkalmazása valamennyi mintához képest szignifikánsan alacsonyabb eredményeket hozott, így ezen vegyületek kinyerésére kerülni kell az ilyen szolvensek alkalmazását. A két paraméter között korábbi irodalmi adatoknak megfelelő hasonló kapcsolatok állt fenn ($r=0,924$), ami a két analitikai eljárás elvi háttérében lévő hasonlóságokra vezethető vissza (MUNTEANU – APETREI, 2021). Kivonataim polifenol tartalma megfelelt az irodalomban fellelhető adatoknak, illetve jól közelítettek a gyógynövénylikőrökben és abszintban mérhető TPC-khez. Ugyanakkor láthatóvá vált, hogy sem az extraktumok, sem pedig – a szakirodalmi adatok alapján – a kész likőrök és erősitalok esetében nem beszélhetünk kiemelkedő polifenol tartalomról, összehasonlítva más alkoholos italokkal, például borokkal vagy borból készített vermutokkal, ami az alapanyag, valamint gyártástechnológiabéli különbségekkel magyarázható.

A spektrofotometriás színmérés alapján igaz volt, hogy az 50 és 75 V/V% etanolt tartalmazó szolvensek alkalmazása közül azonos színintenzitású oldatok eredményez, azonban ezek árnyalata eltérő. Ez jó eséllyel azzal magyarázható, hogy a két koncentráció

eltérő színanyagok kioldásának kedvez, ami különösen a klorofillek esetében kulcskérdés, hiszen ezek a célvegyületei az abszintgyártás során végzett második macerációnak, egyben az italkülönlegesség színét is ezek szolgáltatják (LACHENMEIER et al., 2006). Erre a célra a 75 és 100 V/V% etanollal készített kivonatok lehetnek a legalkalmasabbak. Az árnyalatok tekintetében elmondható, hogy a legdominánsabb mindenhol a sárga (Y%) volt, ami az etanol tartalom növelésével párhuzamosan növekedést mutatott. Ez vélhetően az ebben a tartományban jó abszorpcióval rendelkező klorofillek egyre jobb kivonásával magyarázható. A vörös (R%) árnyalat ezzel ellentétben csökkent az etanol koncentráció növekedésével, ami egyrészt a 420 nm-en abszorbeáló színanyagok javuló kinyerésével, ezzel párhuzamosan a Y% növekedésével magyarázható, azonban további vizsgálatok szükségesek a pontos tisztázás érdekében. A kék (B%) árnyalat esetében nem merült fel egyértelmű trend a minták között, a 100 V/V% etanolnál jelentős növekedést leszámítva, ami az 55 és 75 °C-on készített kivonatoknál fordult elő. A klorofillek és a feofitinek kivonásának tudható be, hiszen ezek rendelkeznek ebben a tartományban abszorpciós maximummal, 660 nm környékén. Összeségében kivonatok árnyalatainak viszonyai lefedték a szakirodalmi adatokat.

A digitális képelemzéssel nyert CIE $L^*a^*b^*$ koordináták alapján a mintákban a sárga és a zöld árnyalatok között mozogtak, melyre negatív „a” (vörös-zöld) és pozitív „b” (sárga-kék) értékeik is rávilágítottak. A 0 és 25 V/V%-al rendelkező kivonatok itt alacsonyabb „a” és „b” koordináta értékei jól mutatták a színanyagok alacsony koncentrációját, egyben a minták közelségét a fehér színhez, ami halványsárga színűkre, valamint az alacsony színanyag kinyerésre vezethető vissza. A tengelyek mentén magasabb „b” értékeket vettek fel az 50 V/V% etanollal készített minták, melyek élénkebb sárga színnel rendelkeztek, ami a flavonoidok és egyéb sárga vegyületek jobb kivonásával volt magyarázható. A valószínűleg magasabb klorofill tartalommal rendelkező kivonatok zöldebb színe a 100 és 75 V/V% etanollal készített kivonatok alacsonyabb, negatív irányú értékeiben jelent meg, ami megint csak az említett pigment kinyerhetőségével áll kapcsolatban ilyen koncentrációk mellett. Összességében a 75 és 100 V/V% etanollal nyert kivonatok fedték le a legjobban az abszintok esetében előírt halvány zöld-zöld színt.

A fentiekben kifejtett analitikai eredmények alapján úgy gondolom a most szerzett ismeretek jó kiindulási alapot nyújthatnak az UAE ipari implementálásában, valamint a későbbi, italspecifikus optimalizálásban. Belátható, hogy a szűréssel együtt közel 1 órás eljárás egy időtakarékos alternatívát jelenthet a hagyományos maceráció kiváltására.

SZAKIRODALMI JEGYZÉK

- ABATE, G. – ZHANG, L. – PUCCI, M. – MORBINI, G. – MAC SWEENEY, E. – MACCARINELLI, G. – RIBAUDO, G. – GIANONCELLI, A. – UBERTI, D. – MEMO, M. – LUCINI, L. – MASTINU, A. (2021): Phytochemical Analysis and Anti-Inflammatory Activity of Different Ethanolic Phyto-Extracts of *Artemisia annua* L. *Biomolecules*, 11. 7. 975. <https://doi.org/10.3390/biom11070975>
- ALCALDE, B. – GRANADOS, M. – SAURINA, J. (2019): Exploring the Antioxidant Features of Polyphenols by Spectroscopic and Electrochemical Methods. *Antioxidants*. 8. 11. 523. <https://doi.org/10.3390/antiox8110523>
- ANTONY, A. – FARID, M. (2022): Effect of Temperatures on Polyphenols during Extraction. *Applied Sciences*, 12. 4. 2107. <https://doi.org/10.3390/app12042107>
- ARIAS-RICO, J. – MACÍAS-LEÓN, F. J. – ALANÍS-GARCÍA, E. – CRUZ-CANSINO, N. DEL S. – JARAMILLO-MORALES, O. A. – BARRERA-GÁLVEZ, R. – RAMÍREZ-MORENO, E. (2020): Study of Edible Plants: Effects of Boiling on Nutritional, Antioxidant, and Physicochemical Properties. *Foods*. 9. 5. 599. <https://doi.org/10.3390/foods9050599>
- ARIFFIN, F. – HEONG CHEW, S. – BHUPINDER, K. – KARIM, A. A. – HUDA, N. (2011): Antioxidant capacity and phenolic composition of fermented *Centella asiatica* herbal teas. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 91. 15. 2731–2739. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4454>
- AVILA-GEORGE, H. – DE-LA-TORRE, M. – SÁNCHEZ-GARCÉS, J. – COAQUIRA QUISPE, J. J. – PRIETO, J. M. – CASTRO, W. (2023): Discrimination of foreign bodies in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) grains using convolutional neural networks with a transfer learning approach. *PeerJ*. 11. e14808. <https://doi.org/10.7717/peerj.14808>
- AZMIN, S. N. H. M. – MANAN, Z. A. – ALWI, S. R. W. – CHUA, L. S. – MUSTAFFA, A. A. – YUNUS, N. A. (2016): Herbal processing and extraction technologies. *Separation and Purification Reviews*. 45. 4. 305–320. <https://doi.org/10.1080/15422119.2016.1145395>
- BACH, B. – CLEROUX, M. – SAILLEN, M. – SCHÖNENBERGER, P. – BURGOS, S. – DUCRUET, J. – VALLAT, A. (2016): A new chemical tool for absinthe producers, quantification of α/β -thujone and the bitter components in *Artemisia absinthium*. *Food Chemistry*. 213. 813–817. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.045>

- BAILLEN, M. – JULIO, L. F. – DIAZ, C. E. – SANZ, J. – MARTÍNEZ-DÍAZ, R. A. – CABRERA, R. – BURILLO, J. – GONZALEZ-COLOMA, A. (2013): Chemical composition and biological effects of essential oils from *Artemisia absinthium* L. cultivated under different environmental conditions. *Industrial Crops and Products*, 49. 102–107. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.04.055>
- BATIHA, G. E.-S. – OLATUNDE, A. – EL-MLEEH, A. – HETTA, H. F. – AL-REJAIE, S. – ALGHAMDI, S. – ZAHOOR, M. – BESHBIISHY, A. M. – MURATA, T. – ZARAGOZA-BASTIDA, A. – RIVERO-PEREZ, N. (2020): Bioactive Compounds, Pharmacological Actions, and Pharmacokinetics of Wormwood (*Artemisia absinthium*). *Antibiotics*, 9. 6. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9060353>
- BAUER, I. L. (2020): Visiting the “green fairy”: Absinthe-tourism – A potential challenge for travel medicine?. *Travel Medicine and Infectious Disease*. 101709. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2020.101709>
- 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>
- BHAT, R. R. – REHMAN, M. U. – SHABIR, A. – RAHMAN MIR, M. U. – AHMAD, A. – KHAN, R. – MASOODI, M. H. – MADKHALI, H – GANAIE, M. A. (2019): Chemical Composition and Biological Uses of *Artemisia absinthium* (Wormwood). *Plant and Human Health*. Volume 3. 37–63. https://doi.org/10.1007/978-3-030-04408-4_3
- BONEVA, V. – IVANOVA, T. – GROZEVA, N. – SLAVCHEVA, M. – DIMITROVA, D. (2024): Ethnobotany of Zmeyovski pelin: A Traditional *Artemisia*-Flavored Wine from Bulgaria. *Beverages*, 10. 3. 50–50. <https://doi.org/10.3390/beverages10030050>
- BOUDJELAL, A. – SMERIGLIO, A. – GINESTRA, G. – DENARO, M. – TROMBETTA, D. (2020): Phytochemical Profile, Safety Assessment and Wound Healing Activity of *Artemisia absinthium* L. *Plants*. 9. 12. 1744. <https://doi.org/10.3390/plants9121744>
- BORA, K. S. – SHARMA, A. (2011): Evaluation of antioxidant and free-radical scavenging potential of *Artemisia absinthium*. *Pharmaceutical Biology*. 49. 12. 1216–1223. <https://doi.org/10.3109/13880209.2011.578142>
- CARVALHO, I. S. – CAVACO, T. – BRODELIUS, M. (2011): Phenolic composition and antioxidant capacity of six *artemisia* species. *Industrial Crops and Products*. 33. 2. 382–388. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.11.005>

- DOČEKALOVÁ, H. – SOURAL, I. – BALÍK, J. – HÍC, P. – TRÍSKA, J. – VRCHOTOVÁ, N. – KOWALCZYK, B. A. – SERIŠ, D. – HORÁK, M. (2024): Enriching absinthe bitters with Stilbenes and Lignans from Waste Plant Materials. *LWT*. 200. 116170. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116170>
- EKIERT, H. – KLIMEK-SZCZYKUTOWICZ, M. – RZEPIELA, A. – KLIN, P. – SZOPA, A. (2022): Artemisia Species with High Biological Values as a Potential Source of Medicinal and Cosmetic Raw Materials. *Molecules*, 27. 19. 6427. <https://doi.org/10.3390/molecules27196427>
- EPERJESI I. – HORVÁTH CS. – SIDLOVITS D. – PÁSTI GY. – ZILAI Z. (2010): Borászati technológia. Mezőgazda Lap és Könyvkiadó Kft. Budapest. 314 p
- FERNÁNDEZ-PACHÓN, M. S. – VILLANO, D. – GARCIA-PARRILLA, M. C. – TRONCOSO, A. M. (2004): Antioxidant activity of wines and relation with their polyphenolic composition. *Analytica Chimica Acta*. 513. 1. 113-118. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.02.028>
- GENTSCHEVA, G. – KARADJOVA, I. – MINKOVA, S. – NIKOLOVA, K. – ANDONOVA, V. – PETKOVA, N. – MILKOVA-TOMOVA, I. (2021): Optical Properties and Antioxidant Activity of Water-Ethanollic Extracts from *Sempervivum tectorum* L. from Bulgaria. *Horticulturae*. 7. 12. 520. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7120520>
- GORJANOVIĆ, S. Z. – NOVAKOVIĆ, M. M. – VUKOSAVLJEVIĆ, P. V. – PASTOR, F. T. – TEŠEVIĆ, V. V. – SUŽNJEVIĆ, D. Z. (2010): Polarographic assay based on hydrogen peroxide scavenging in determination of antioxidant activity of strong alcohol beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58. 14. 8400-8406. <https://doi.org/10.1021/jf101158j>
- GOVINDARAGHAVAN, S. – SUCHER, N. J. (2015): Quality assessment of medicinal herbs and their extracts: Criteria and prerequisites for consistent safety and efficacy of herbal medicines. *Epilepsy & Behavior*. 52. 363–371. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2015.03.004>
- GUTIÉRREZ-ESCOBAR, R. – ALIAÑO-GONZÁLEZ, M. J. – CANTOS-VILLAR, E. (2021): Wine Polyphenol Content and Its Influence on Wine Quality and Properties: A Review. *Molecules*, 26. 3. 718. <https://doi.org/10.3390/molecules26030718>
- HAMAUZU, Y. – KUME, C. - YASUI, H. – FUJITA, T. (2007): Reddish Coloration of Chinese Quince (*Pseudocydonia sinensis*) Procyanidins during Heat Treatment and Effect on

- Antioxidant and Antiinfluenza Viral Activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55. 4. 1221–1226. <https://doi.org/10.1021/jf061836>
- HANOUSEK ČIČA, K. – STANZER, D. – ZORIĆ, Z. – RADOŠEVIĆ, K. – RADEKA, S. – LEŠIĆ, T. – DEREWIKA, D. – MRVČIĆ, J. (2024): Phenolic Compound Characterization and Biological Activities of Mistletoe (*Viscum album* L.) Ethanol Macerates Used in Herbal Spirit Production. *Beverages*. 10. 2. 41–41. <https://doi.org/10.3390/beverages10020041>
- HERRERO-LATORRE, C. – BARCIELA-GARCÍA, J. – GARCÍA-MARTÍN, S. – PEÑA-CRECENTE, R. M. (2019): Detection and quantification of adulterations in aged wine using RGB digital images combined with multivariate chemometric techniques. *Food Chemistry: X*. 3. 100046. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2019.100046>
- HIJAZI, A. – AL MASRI, D. S. – FARHAN, H. – NASSER, M. – RAMMAL, H. – ANNAN, H. (2015): Effect of different ethanol concentrations, using different extraction techniques, on the antioxidant capacity of Lebanese *Eryngium creticum*. *Journal of pharmaceutical, chemical and biological sciences*, 3. 2. 262-271.
- ISSA-ISSA, H. – IVANIŠOVÁ, E. – NOGUERA-ARTIAGA, L. – KÁNTOR, A. – LÓPEZ-LLUCH, D. – KAČÁNIOVÁ, M. – SZUMNY, A. – CARBONELL-BARRACHINA, Á. A. (2019): Effect of the herbs used in the formulation of a Spanish herb liqueur, Herbero de la Sierra de Mariola, on its chemical and functional compositions and antioxidant and antimicrobial activities. *European Food Research and Technology*. 245. 6. 1197–1206. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03247-7>
- JASMIN, G. – PERESTRELO, R. – COÏSSON, J. D. – SOUSA, P. – TEIXEIRA, J. A. – BORDIGA, M. – CÂMARA, J. S. (2023): Tracing the Volatilomic Fingerprint of the Most Popular Italian Fortified Wines. *Foods*. 12. 10. 2058–2058. <https://doi.org/10.3390/foods12102058>
- JANZ, J. – SHAYYA, N. W. – BERESWILL, S. – HEIMESAAT, M. M. (2022): Absinthe against multi-drug resistant bacterial pathogens? A recent update on the antibacterial effects of *Artemisia* compounds. *European Journal of Microbiology and Immunology*. 12. 2. 31–38. <https://doi.org/10.1556/1886.2022.00007>
- KAEFER, C. M. – MILNER, J. A. (2008): The Role of Herbs and Spices in Cancer Prevention. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 19. 6. 347–361. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2007.11.003>
- KÁLLAY M. (2010): *Borászati kémia*. Mezőgazda Kiadó. Budapest. 206 p.

- KAOUDOUNE, C. – BENCHIKH, F. – BENABDALLAH, H. – LOUCIF, K. – MEHLOUS, S. – AMIRA, S. (2020): Gastroprotective effect and in vitro Antioxidant Activities of the Aqueous Extract from *Artemisia absinthium* L Aerial Parts. *Journal of drug delivery and therapeutics*. 10. 4. 153-156. <https://doi.org/10.22270/jddt.v10i4.4253>
- KANG, Y.-R. – PARK, J. – JUNG, S. K. – CHANG, Y. H. (2018): Synthesis, characterization, and functional properties of chlorophylls, pheophytins, and Zn-pheophytins. *Food Chemistry*. 245. 943–950. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.079>
- KESARKAR, S. – BHANDAGE, A. – DESHMUKH, S. – SHEVKAR, K. – ABHYANKAR, M. (2009): Flavonoids: an overview. *Journal of Pharmacy Research*. 2. 6. 1148-1154.
- KHAN, M. F. – TANG, H. – LYLES, J. T. – PINEAU, R. – MASHWANI, Z.-R. – QUAVE, C. L. (2018): Antibacterial Properties of Medicinal Plants From Pakistan Against Multidrug-Resistant ESKAPE Pathogens. *Frontiers in Pharmacology*. 9. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00815>
- KIFLEYOHANNES, T. – TEREFE, G. – TOLOSSA, Y. H. – GIDAY, M. – KEBEDE, N. (2014): Effect of crude extracts of *Moringa stenopetala* and *Artemisia absinthium* on parasitaemia of mice infected with *Trypanosoma congolense*. *BMC Research Notes*. 7. 1. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-7-390>
- KONG, W. – LIU, N. – ZHANG, J. – YANG, Q. – HUA, S. – SONG, H. – XIA, C. (2012): Optimization of ultrasound-assisted extraction parameters of chlorophyll from *Chlorella vulgaris* residue after lipid separation using response surface methodology. *Journal of Food Science and Technology*. 51. 9. 2006–2013. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0706-z>
- KONTOUDAKIS, N. – ESTERUELAS, M. – FORT, F. – CANALS, J. M. – ZAMORA, F. (2010): Comparison of methods for estimating phenolic maturity in grapes: Correlation between predicted and obtained parameters. *Analytica Chimica Acta*, 660. 1-2. 127–133. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.10.067>
- KOYUNCU, I. (2018): Evaluation of anticancer, antioxidant activity and phenolic compounds of *Artemisia absinthium* L. Extract. *Cellular and Molecular Biology*. 64. 3. 25. <https://doi.org/10.14715/cmb/2018.64.3.5>
- LACHENMEIER, D. W. – WALCH, S. G. – PADOSCH, S. A. – KRÖNER, L. U. (2006): Absinthe—a review. *Critical reviews in food science and nutrition*. 46. 5. 365-377. <https://doi.org/10.1080/10408690590957322>

- LACHENMEIER, D. W. (2007): Assessing the authenticity of absinthe using sensory evaluation and HPTLC analysis of the bitter principle absinthin. *Food Research International*. 40. 1. 167-175. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.09.002>
- LIANG, Z. – ZHANG, P. – ZENG, X.-A. – FANG, Z. (2021): The art of flavored wine: Tradition and future. *Trends in Food Science & Technology*, 116. 130–145. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.07.020>
- LUTGEN, P. (2018): Tannins in Artemisia: the hidden treasure of prophylaxis. *Pharmacy & Pharmacology International Journal*. 6. 3. <https://doi.org/10.15406/ppij.2018.06.00173>
- MAHANTA, B. P. – BORA, P. K. – KEMPRAI, P. – BORAH, G. – LAL, M. – HALDAR, S. (2021): Thermolabile essential oils, aromas and flavours: Degradation pathways, effect of thermal processing and alteration of sensory quality. *Food Research International*. 145, 110404. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110404>
- MIAZEK, K. – LEDAKOWICZ, S. (2013): Chlorophyll extraction from leaves, needles and microalgae: A kinetic approach. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*. 6. 2. 107-115. <https://doi.org/10.25165/ijabe.v6i2.642>
- MINZ, P. S. – SAINI, C. S. (2021): RGB camera-based image technique for color measurement of flavored milk. *Measurement: Food*. 4. 100012. <https://doi.org/10.1016/j.meafoo.2021.100012>
- MOACĂ, E.-A. – PAVEL, I. Z. – DANCIU, C. – CRĂINICEANU, Z. – MINDA, D. – ARDELEAN, F. – ANTAL, D. S. – GHIULAI, R. – CIOCA, A. – DERBAN, M. – SIMU, S. – CHIOIBAȘ, R. – SZUHANÉK, C. – DEHELEAN, C.-A. (2019): Romanian Wormwood (*Artemisia absinthium* L.): Physicochemical and Nutraceutical Screening. *Molecules*. 24. 17. <https://doi.org/10.3390/molecules24173087>
- MOHAMMED, M. J. – ANAND, U. – ALTEMIMI, A. B. – TRIPATHI, V. – GUO, Y. – PRATAP-SINGH, A. (2021): Phenolic Composition, Antioxidant Capacity and Antibacterial Activity of White Wormwood (*Artemisia herba-alba*). *Plants*, 10. 1. 164. <https://doi.org/10.3390/plants10010164>
- MONRAD, J. K. – HOWARD, L. R. – KING, J. W. – SRINIVAS, K. – MAUROMOUSTAKOS, A. (2009): Subcritical Solvent Extraction of Procyanidins from Dried Red Grape Pomace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58. 7. 4014–4021. <https://doi.org/10.1021/jf9028283>

- MORATA, A. – VAQUERO, C. – PALOMERO, F. – LOIRA, I. – BAÑUELOS, M. A. – SUÁREZ-LEPE, J. A. (2019): Technology of vermouth wines. Alcoholic beverages. 35-63. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815269-0.00002-7>
- MŁODZIŃSKA, E. (2009): Survey of plant pigments: molecular and environmental determinants of plant colors. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*. 51. 1. 7-16.
- MRVČIĆ, J. – POSAVEC, S. – KAZAZIĆ, S. – STANZER, D. – PEŠA, A. – STEHLIK-TOMAS, V. (2012): Spirit drinks: a source of dietary polyphenols. *Croatian journal of food science and technology*. 4. 2. 102-111.
- MSAADA, K. – SALEM, N. – BACHROUCH, O. – BOUSSELMI, S. – TAMMAR, S. – ALFAIFY, A. – AL SANE, K. – BEN AMMAR, W. – AZEIZ, S. – HAJ BRAHIM, A. – HAMMAMI, M. – SELMI, S. – LIMAM, F. – MARZOUK, B. (2015): Chemical Composition and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Wormwood (*Artemisia absinthium* L.) Essential Oils and Phenolics. *Journal of Chemistry*. 2015. 1–12. <https://doi.org/10.1155/2015/804658>
- MUNTEANU, I. G. – APETREI, C. (2021): Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International journal of molecular sciences*, 22. 7. 3380. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>
- NAZERI, M. – MIRZAIE-ASL, A. – SAIDIJAM, M. – MORADI, M. (2020): Methanolic extract of *Artemisia absinthium* prompts apoptosis, enhancing expression of Bax/Bcl-2 ratio, cell cycle arrest, caspase-3 activation and mitochondrial membrane potential destruction in human colorectal cancer HCT-116 cells. *Molecular Biology Reports*, 47. 11. 8831–8840. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05933-2>
- NGUYEN, H. T. – NÉMETH, Z. É. (2016): Sources of variability of wormwood (*Artemisia absinthium* L.) essential oil. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 3. 4. 143–150. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2016.07.005>
- OREOPOULOU, A. – TSIMOGIANNIS, D. – OREOPOULOU, V. (2019): Extraction of Polyphenols From Aromatic and Medicinal Plants: An Overview of the Methods and the Effect of Extraction Parameters. *Polyphenols in Plants*. 243–259. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813768-0.00025-6>
- PARHAM, S. – KHARAZI, A. Z. – BAKHSHESHI-RAD, H. R. – NUR, H. – ISMAIL, A. F. – SHARIF, S. – RAMAKRISHNA, S. – BERTO, F. (2020). Antioxidant, Antimicrobial and

Antiviral Properties of Herbal Materials. Antioxidants, 9. 12. 1309. <https://doi.org/10.3390/antiox9121309>

PÉREZ-MAGARIÑO, S. – GONZÁLEZ-SAN JOSÉ, M. L. (2002): Prediction of red and rosé wine CIELab parameters from simple absorbance measurements. Journal of the Science of Food and Agriculture. 82. 11. 1319–1324. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1191>

PETROVIĆ, M. – PASTOR, F. – ĐUROVIĆ, S. – VELJOVIĆ, S. – GORJANOVIĆ, S. – SREDOJEVIĆ, M. – VUKOSAVLJEVIĆ, P. (2021): Evaluation of novel green walnut liqueur as a source of antioxidants: Multi-method approach. Journal of Food Science and Technology. 58. 2160-2169. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04726-6>

PIELECH-PRZYBYLSKA, K. – BALCEREK, M. (2019): New Trends in Spirit Beverages Production. Alcoholic Beverages. 65–111. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815269-0.00003-9>

PEREIRA, V. – ALBUQUERQUE, F. – CACHO, J. – MARQUES, J. (2013): Polyphenols, Antioxidant Potential and Color of Fortified Wines during Accelerated Ageing: The Madeira Wine Case Study. Molecules. 18. 3. 2997–3017. <https://doi.org/10.3390/molecules18032997>

PUTRA, M. – DARMAWAN, A. – WAHDINI, I. – ABASAEED, A. (2017): Extraction of chlorophyll from pandan leaves using ethanol and mass transfer study. Journal of the Serbian Chemical Society. 82. 7-8. 921–931. <https://doi.org/10.2298/jsc161203038p>

RAMAZANI, A. – SARDARI, S. – ZAKERI, S. – VAZIRI, B. (2010): In vitro antiplasmodial and phytochemical study of five Artemisia species from Iran and in vivo activity of two species. Parasitology Research. 107. 3. 593-599. <https://doi.org/10.1007/s00436-010-1900-4>

RØDTJER, A. – SKIBSTED, L. H. – ANDERSEN, M. L. (2006): Identification and quantification of phenolics in aromatic bitter and cherry liqueur by HPLC with electrochemical detection. European Food Research and Technology. 223. 5. 663–668. <https://doi.org/10.1007/s00217-005-0250-4>

SENDI, N. – MKADMINI-HAMMI, K. – MANSOUR, R. B. – SELMI, S - TRABELSI, N. – ISODA, H., KSOURI, R. - MEGDICHE-KSOURI, W. (2020): Simultaneous optimization of ultrasound-assisted extraction of flavonoid compounds and antiradical activity from *Artemisia herba-Alba* using response surface methodology. Preparative Biochemistry & Biotechnology. 50. 9. 943–953. <https://doi.org/10.1080/10826068.2020.1774778>

- SENICA, M. – MIKULIC-PETKOVSEK, M. (2019): Changes in beneficial bioactive compounds in eight traditional herbal liqueurs during a one-month maceration process. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 100. 1. 343–353. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10044>
- SHAFI, G. – HASAN, T. N. – SYED, N. A. – AL-HAZZANI, A. A. – ALSHATWI, A. A. – JYOTHI, A. – MUNSHI, A. (2012): *Artemisia absinthium* (AA): a novel potential complementary and alternative medicine for breast cancer. *Molecular Biology Reports*. 39. 7. 7373–7379. <https://doi.org/10.1007/s11033-012-1569-0>
- SHAIK, M. I. – HAMDI, I. H. – SARBON, N. M. (2023): A comprehensive review on traditional herbal drinks: Physicochemical, phytochemicals and pharmacology properties. *Food Chemistry Advances*, 100460. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100460>
- SHEN, L. – PANG, P. – ZHONG, M. – SUN, Y. – QAYUM, A. – LIU, Y. – RASHID, A. – XU, B. – MA, H. – MA, H. – REN, X. (2023): A comprehensive review of Ultrasonic assisted extraction (UAE) for bioactive components: principles, advantages, equipment, and combined technologies. *Ultrasonics Sonochemistry*. 101. 106646–106646. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2023.106646>
- SINGLETON, V. L. – ROSSI, J. A. (1965): Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16. 3. 144-158.
- SZOPA, A. – PAJOR, J. – KLIN, P. – RZEPIELA, A. – ELANSARY, H. O. – AL-MANA, F. A. – MATTAR, M. A. – EKIERT, H. (2020): *Artemisia absinthium* L.—Importance in the History of Medicine, the Latest Advances in Phytochemistry and Therapeutical, Cosmetological and Culinary Uses. *Plants*. 9. 9. 1063. <https://doi.org/10.3390/plants9091063>
- SUNOJ, S. – IGATHINATHANE, C. – SALIENDRA, N. – HENDRICKSON, J. – ARCHER, D. (2018): Color calibration of digital images for agriculture and other applications. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*. 146. 221–234. <https://doi.org/10.1016/j.isprsjprs.2018.09.015>
- THAKKAR, S. – ANKLAM, E. – XU, A. – ULBERTH, F. – LI, J. – LI, B. – HUGAS, M. – SARMA, N. – CRERAR, S. – SWIFT, S. – HAKAMATSUKA, T. – CURTUI, V. – YAN, W. – GENG, X. – SLIKKER, W. – TONG, W. (2020): Regulatory landscape of dietary supplements and herbal medicines from a global perspective. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 114. 104647. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2020.104647>

- TRIŠIĆ, I. – ŠTETIĆ, S. – PRIVITERA, D. – NEDELCU, A. (2020): Wine Routes in Vojvodina Province, Northern Serbia: A Tool for Sustainable Tourism Development. Sustainability. 12. 1. 82. <https://doi.org/10.3390/su12010082>
- VINATORU, M. – MASON, T. J. – CALINESCU, I. (2017): Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. TrAC Trends in Analytical Chemistry. 97. 159-178. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.09.002>
- WEI, X. – XIA, L. – ZIYAYIDING, D. – CHEN, Q. – LIU, R. – XU, X. – LI, J. (2019): The Extracts of Artemisia absinthium L. Suppress the Growth of Hepatocellular Carcinoma Cells through Induction of Apoptosis via Endoplasmic Reticulum Stress and Mitochondrial-Dependent Pathway. Molecules, 24. 5. 913. <https://doi.org/10.3390/molecules24050913>

Ábrák és táblázatok jegyzéke

Ábrák:

1. ábra: A fehér ürmű ipari felhasználása.....	5
2. ábra: Összes polifenol tartalom alakulása	17
3. ábra: A minták FRAP-értékének alakulása	23
4. ábra: A minták színintenzitásának alakulása	26
5. ábra: Minták ábrázolása CIE $L^*a^*b^*$ alapú koordináta rendszerben	32

Táblázatok:

1. táblázat: A minták átlagos RGB-színének bemutatása.....	31
2. táblázat: Pearson-féle korrelációs együtthatók alakulása a paraméterek között.....	33