

Szakami záróbeszámoló

Élelmi polifenolok és anyagcseretermékeik átfogó feltérképezése tömegspektrometriás módszerekkel (OTKA PD 100506) pályázatról

1 Bevezetés

A polifenolok összefoglaló név olyan nitrogén heteroatomot nem tartalmazó növényi másodlagos anyagcseretermékeket takar, melyek legalább egy aromás gyűrűt és azon található hidroxilcsoport(ka)t tartalmaznak. E molekulák elsődleges funkciói a növényt érő fertőzések és fizikai behatások (pl. UV sugárzás) elleni védelméhez köthetők. Epidemiológiai és klinikai humán vizsgálatok eredményeiből tudjuk, a polifenolokban gazdag növényi élelmiszereket rendszeresen fogyasztó emberek körében bizonyos krónikus betegségek (pl.: neurodegeneratív vagy szív érrendszeri megbetegedések) kialakulásának kockázata csökken, illetve bizonyos rák típusok kifejlődése lassul. [1, 2] Ezért érthető módon, e molekulák jótékony biológiai hatása mögött meghúzódó hatásmechanizmusok megismerése rég óta foglalkoztatja a tudományos közösséget. Eleinte, e molekulák kémiai tesztekben mutatott „antioxidáns” tulajdonságaival magyarázták jótékony biológiai hatásukat. Ugyanakkor mára elfogadott tényné vált, hogy e feltevés tévesnek bizonyult és e molekulák kétség kívül meglévő antioxidáns tulajdonságaival, önmagában nem magyarázhatók a tapasztalt biológiai hatások. A hatásmechanizmusok vélhetően jóval összetettebbek, és ha a valódi hatások megismerésére törekszünk, nem tekinthetjük a „polifenolokat” egységes hatásmechanizmus alapján működő molekulacsaládnak. E kutatási területen végbement paradigmaváltás eredményeképpen egyértelművé vált az is, hogy a polifenolok valódi biológiai hatásának megismeréséhez számos kutatómódszertani változtatás mellett, szükség van olyan mérési módszerek kidolgozására is, melyek segítségével minél részletesebb információt kapunk a növényekben előforduló polifenolok anyagi minőségéről, szerkezetéről. Mivel a növényekben megtalálható polifenolformák rendkívül nagy változatosságot mutathatnak – szerteágazó molekulacsoportnak eddig mintegy 8000 tagját írták le – olyan feltérképező módszerekre van szükség, melyek előzetes feltételezések, ún. apriori tudás nélkül is képesek minél részletesebb információt adni a mintákban található polifenolformákról. A kutatásunk célja az volt, hogy olyan folyadékkromatográfiás-tömegspektrometriás módszereket dolgozzunk ki, melyek kielégítik a fenti igényeket és ezáltal hozzájárulhatnak e terület fejlődéséhez. Emellett a kidolgozott módszerek gyakorlati alkalmazása, szintén a kitűzött célok között volt, melynek eredményeképpen többek között azt reméltük, hogy új polifenolalkotókat is képesek leszünk leírni a vizsgált rendszerekből, illetve közelebb juthatunk az emberi emésztés során bekövetkező változások megértéséhez.

2 Eredmények

Az elért eredményeket három részre tagolva foglalom össze. Elsőként a módszerfejlesztés eredményeit, majd a kidolgozott módszerek alkalmazását, végül az elsőként leírt alkotókat mutatom be.

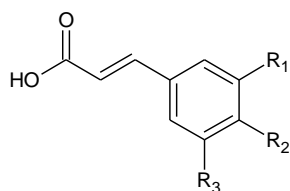
2.1 Tömegspektrometriás módszerfejlesztés

2.1.1 Kereső módszerek fejlesztése

A polifenolok tömegspektrometriás azonosítását segítheti, hogy a legtöbb alkotó, behatárolható számú, ismert alegység különféle kombinációjából épül fel. A molekulák tömegspektrometriás fragmentációjával információ nyerhető a molekulát felépítő alegységekről, mely alapján behatárolhatjuk a vizsgált komponensek körét. Egy mintában csupán néhány tíz polifenolforma

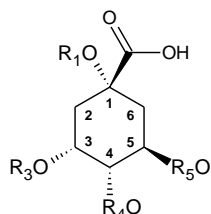
jelenléte a jellemző, de hogy melyek ezek, azt a legtöbb felderítő vizsgálat esetében előre nem tudjuk. Elvileg több száz féle különböző polifenol előfordulhat. Ismeretlen polifenolok azonosítására ezért olyan kereső módszerekre van szükség, melyek esetén nem kell előzetes információval rendelkezni a vizsgálandó komponensekről, egész pontosan azok (ion)tömegéről. Az általunk fejlesztett tömegspektrometriás módszerek sajátossága, hogy az ún. ionforrás fragmentációt alkalmazza. E technika alkalmazásával olyan módon nyerhetünk fragmentációs adatokat – és ezáltal információt a polifenolmolekulát felépítő alegységekről – hogy nem kell előzetes ismeretekkel rendelkezni a keresett molekulák tömegéről. A módszer alkalmazása akkor igazán hatékony, ha az ionforrást követően, teljes letapogatású tömegspektrometriás adatfelvételt alkalmazunk. Vizsgálataink során repülési idő tömegspektrometriát (time-of-flight mass spectrometry, TOFMS) alkalmaztunk, mely azon túl, hogy teljes letapogatású tömegspektrumokat rögzít, mindezt nagy tömegfelbontással és tömegpontossággal teszi. Ez az alegységek megbízhatóbb azonosítását eredményezni. **Kutatásunk során egy a fenti elveket követő módszert dolgoztunk ki, melyet – a klorogénsavak vizsgálati példáján keresztül szemléltetve – a *J Mass Spectrometry* folyóiratban közöltük. [3]**

A klorogénsavak a polifenolok egyik fő csoportját képezik, napi bevitelük – például egy rendszeres kávéfogyasztó esetén – könnyedén elérheti akár a napi 1 g mennyiséget is. [4] A legjellemzőbb klorogénsav, a kinasav-5-*O*-kávésav, de tágabb értelemben klorogénsavaknak nevezzük egyéb hidroxifahéj savaknak (pl.: kumársav, ferulasav) a kinasavval alkotott mono-, di-, tri-észtereit. A klorogénsavakról nyújt áttekintést az **1. ábra**. A klorogénsavakhoz társítható biológiai hatások ma még részleteiben nem ismertek. A rendelkezésre álló adatokból az tűnik ki, hogy a klorogénsavaknak érfal funkciót javító, illetve vérnyomáscsökkentő hatása lehet. [5] Az ilyen témájú tanulmányok kivitelezését nehezíti, hogy a különböző növényekben megtalálható klorogénsavak azonosítása és analitikai vizsgálata a mai napig nehézséget jelent, mert számos izomer komponens létezhet, melyek egymástól való megkülönböztetése, standard anyagok hiányában összetett feladat. Az általunk kifejlesztett módszer alkalmasnak bizonyult arra is, hogy a tömegspektrometriás fragmentáció útján keletkező termékionok arányait alapul véve, helyzet izomereket (pl.: kinasav-3,4-*O*-dikávésav; kinasav-3,5-*O*-dikávésav; kinasav-4,5-*O*-dikávésav) is megkülönböztessünk egymástól (**2. ábra**). Ilyen vizsgálatokat korábban elsősorban ioncsapda rendszerű készülékekkel végeztek. **Az általunk kidolgozott módszer azonban a már említett nagy tömegfelbontás és pontos tömegmérési képesség okán megbízhatóbb azonosítást tesz lehetővé.**



Cinnamic acids

Name	Abbreviation	R ₁	R ₂	R ₃
cinnamic acid	CiA	H	H	H
<i>p</i> -coumaric acid	pCoA	H	OH	H
caffeic acid	CA	OH	OH	H
ferulic acid	FA	OCH ₃	OH	H
hydroxyferulic acid	HFA	OCH ₃	OH	OH
sinapic acid	SiA	OCH ₃	OH	OCH ₃

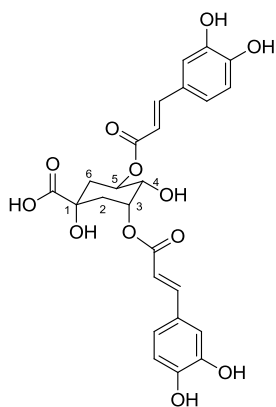


Quinic acids

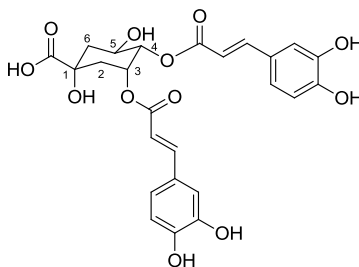
((1*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-tetrahydroxycyclohexanecarboxylic acid)

Name	Abbreviation	R ₁	R ₃	R ₄	R ₅
quinic acid	QA	H	H	H	H
mono-esters					
1- <i>O</i> -hydroxycinnamoylquinic acid	1-HCQA	HCA	H	H	H
3- <i>O</i> -hydroxycinnamoylquinic acid	3-HCQA	H	HCA	H	H
4- <i>O</i> -hydroxycinnamoylquinic acid	4-HCQA	H	H	HCA	H
5- <i>O</i> -hydroxycinnamoylquinic acid	5-HCQA	H	H	H	HCA
di-esters					
1,3- <i>O</i> -dihydroxycinnamoylquinic acid	1,3-diHCQA	HCA	HCA	H	H
1,4- <i>O</i> -dihydroxycinnamoylquinic acid	1,4-diHCQA	HCA	H	HCA	H
1,5- <i>O</i> -dihydroxycinnamoylquinic acid	1,5-diHCQA	HCA	H	H	HCA
3,4- <i>O</i> -dihydroxycinnamoylquinic acid	3,4-diHCQA	H	HCA	HCA	H
3,5- <i>O</i> -dihydroxycinnamoylquinic acid	3,5-diHCQA	H	HCA	H	HCA
4,5- <i>O</i> -dihydroxycinnamoylquinic acid	4,5-diHCQA	H	H	HCA	HCA
tri-esters					
1,3,4- <i>O</i> -trihydroxycinnamoylquinic acid	1,3,4-triHCQA	HCA	HCA	HCA	H
1,3,5- <i>O</i> -trihydroxycinnamoylquinic acid	1,3,5-triHCQA	HCA	HCA	H	HCA
1,4,5- <i>O</i> -trihydroxycinnamoylquinic acid	1,4,5-triHCQA	HCA	H	HCA	HCA
tetra-esters					
1,3,4,5- <i>O</i> -tetrahydroxycinnamoylquinic acid	1,3,4,5-tetraHCQA	HCA	HCA	HCA	HCA

1. ábra Klorogénsavak (kinasav-hidrofikahéjsav észterek) áttekintése



kinasav-3,4-*O*-dikavésav



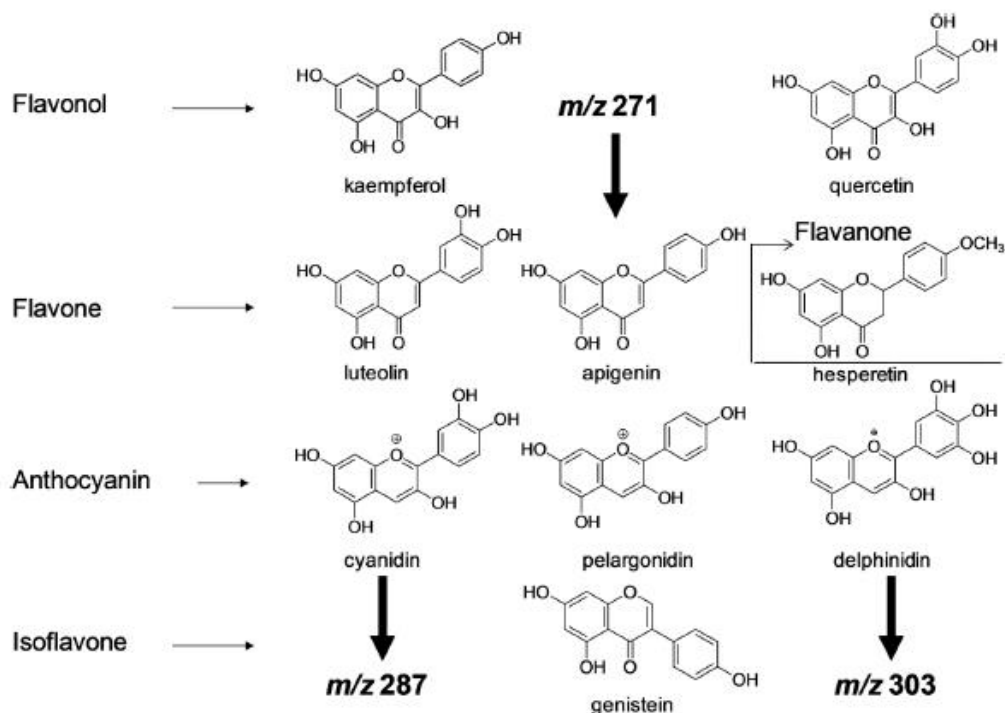
kinasav-3,5-*O*-dikavésav

2. ábra Jellegzetes polifenol helyet izomerek

2.1.2 Izomer aglikonok

A polifenolok tömegspektrometriás azonosításának egyik legnagyobb kihívása, hogy számos izomer fordulhat elő egy-egy mintában. Az előző fejezetben bemutatott módszer példaként szolgált arra, hogy például klorogénsavak esetén, a fragmentáció során keletkező alegységek ionarányainak vizsgálata lehetővé tesz helyzet izomer szintű azonosítást. Ugyanakkor flavonoidok esetén – melyek a polifenoloknak egy másik jelentős családját alkotják – a fentiekől eltérő gondot is okozhatnak az előforduló konstitúciós izomerek. A flavonoidok, a növényekben általában szacharid konjugátumok

formájában fordulnak elő. Ilyenkor a flavonoid „mag”, mono-, di-, vagy triszacharid formában fordul elő leggyakrabban. Tömegspektrometriás azonosításuk során az egyes szacharid alegységek lehasadásával keletkező ionok tömegei alapján következtethetünk a flavonoid-konjugátumra. E széles körben elterjedt megközelítés hátránya, hogy nem teszi lehetővé olyan flavonoid-konjugátumok megbízható azonosítását, melyek esetén maga a flavonoid „mag” többféle konstitúciós izomer is lehet. Ilyen esetekben, a szacharid alegységeket tartalmazó köztes termékionok, illetve a minden szacharidrészt elveszített ún. flavonoid aglikon iontömege különféle izomer flavonoid „mag” molekula esetén, azonos lesz. Az általunk vizsgált ilyen aglikonokat foglalja össze a **3. ábra**. Olyan módszert kívántunk fejleszteni, mely képes ilyen esetekben is egyértelmű megkülönböztetést tenni az egyes izomerek között. A kidolgozott módszerünk lényege, hogy az ionforrás-fragmentációt követően, a keletkező aglikon fragmenst, további tandem tömegspektrometriás vizsgálatnak vetjük alá. Ez gyakorlatilag két egymást követő tömegspektrometrás fragmentációt is alkalmazó, ún. MS³ kísérletet tesz szükségessé. Ezt ionforrás-fragmentációt követő hármas kvadrupól tandem tömegspektrometriás detektálással oldottuk meg. Megjegyzendő, hogy ez az általunk alkalmazott módszer nem tekinthető valódi MS³ kísérletnek, ezért ún. pszeudo-MS³ kísérletnek neveztük el. **Az alternatívaként ilyen célra alkalmazható és valódi MS³ kísérletet eredményező, ioncsapdás tömegspektrometriás technikához képest, az általunk alkalmazott módszer előnye, hogy nem kell előre meghatározni a vizsgálni kívánt alkotók tömegét. Azaz, az előző fejezetben bemutatott módszerhez hasonlóan, ez is alkalmas felderítő vizsgálatokra. A kidolgozott módszert szintén a *J Mass Spectrometry* folyóiratban közzétük.** [6]



3. ábra Példák izomer flavonoid aglikonokra. Az oszlopokban azonos tömegszámú, de különböző flavonoidok találhatóak. Megjegyzendő, hogy a jobbszélső oszlopban középen található hesperetin pozitív ion módban keletkező iontömege egész tömegszámra kerekítve m/z 303, ugyanakkor összegképlete eltér, tehát nem izomere a kvercetinnek (quercetin) és delphinidinnek (delphinidin). Kis tömegfelbontású tömegspektrométerrel azonban a fennálló 36 mDa tömegkülönbség nem kimutatható.

2.2 Alkalmazások

2.2.1 Gyümölcsminták profilozása

A kidolgozott módszereket többféle alkalmazás során is hasznosítottuk. Az élelmi polifenolok forrásaként szolgáló gyümölcsök polifenolkészletének feltérképezése alapvető célkitűzéseink között szerepelt. Ennek keretében elvégeztük különféle meggy (*Prunus cerasus*) és kajszibarack (*Prunus armeniaca*) minták polifenolkészletének feltérképezését. **A kiválasztott gyümölcsök polifenolkészletének ilyen részletekbe menő leírását, a kutatás keretében elsőként végeztük el. Meggy esetében az eredményeink részét képezték Papp Nóra 2014-ben sikeresen megvédett PhD disszertációjának [7] és az eredmények folyóiratcikk formájában történő közlése folyamatban van, a kézirat hamarosan benyújtásra kerül.** A meggyprofilozás eredményi felhasználásra kerültek további táplálkozási kutatásokban, melyekből született folyóiratcikket e helyütt csak megemlítem, mint az eredményink további hasznosítását, de ez nem közvetlenül köthető e kutatáshoz.[8]

A hazánkban termesztett kajszi polifenolkészletének részletes feltérképezését elsőként szintén e kutatás keretében végeztük el. Ezek az eredmények a gerincét képezik Nagy Ádám 2016-ban sikeresen megvédett PhD disszertációjának, valamint egyes részleteket a módszertani cikkben közzöltük. [3, 9] További eredmények közlését tervezzük, a kézirat előkészületben van.

2.2.2 Kezelések során bekövetkező változások feltárása

A kutatás első évében a tervezett kajszi és meggy fajták begyűjtése sajnos meghiúsult, mivel a tavaszi fagyok gyakorlatilag teljes mértékben megsemmisítették a kísérleti ültetvényen a csonthéjas termést. A módszerfejlesztéseket ezért korábbi évekből eltett mintákkal végeztük. Ugyanakkor, bár az előzetes tervekben nem szerepelt, a kutatás folytathatósága érdekében, a tervezett gyümölcsökhöz képest alternatívaként 2012 nyarán sikerült nagy antocianin tartalma miatt jelentős fekete bodza (*Sambucus nigra*) mintákat begyűjteni. A bodzagyümölcs a természetes élelmiszer színezékként történő felhasználása miatt került az élelmiszeripar érdeklődési körébe. A bodzagyümölcs pigment anyagai, az antocianinek, szintén a polifenolok csoportjába tartoznak. **A polifenolkészlet feltérképezése során megállapítottuk, hogy a gyümölcs a színező képességét 3 fő antocianin alkotó adja. A nagy tömegpontosságú és tömegfelbontású tömegspektrometriás módszereink alkalmazásával azonban fel tudtuk tárni és nyomon tudtuk követni a feldolgozás során keletkező esetleges metabolitok megjelenését. E kutatás eredményeit az *Int J Food Science and Technol* folyóiratban megjelent két közleményben [10, 11], illetve Szalóki-Dorkó Lilla 2016-ban sikeresen megvédett PhD dolgozatában közzöltük. [12]**

A Pécsi Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Növénybiológia Tanszékével egy előre nem tervezett együttműködés keretében a kidolgozott módszereket sikeresen alkalmaztuk régi őshonos Góhér szőlőfajták levelében, a napfény hatására a polifenoltartalomban bekövetkező változások feltárására és nyomon követésére. **A kutatás keretében előzetes információk nélkül végrehajtott polifenol feltérképezés eredményeképpen 16 polifenolformát azonosítottunk, így ezen alkotók ismeretében lehetőség nyílt a rutinszerű mennyiségi meghatározás megtervezésére és kivitelezésére. Ennek az alkalmazásnak az eredményeire alapozott kutatás eredményei az *Applied Science* folyóiratban közzöltük. [13]**

2.2.3 Gyümölcs emésztmények

A kutatás fontos részét képezte a gyümölcsökkel elfogyasztott polifenoloknak a humán emésztő rendszerben keletkező anyagcseretermékek vizsgálata. Ennek azért van jelentősége, mert a

polifenolokhoz társított biológiai hatás megismerésnek fontos lépése, hogy ismereteket szerezzünk az ún. biológiai hozzáférhetőségről. A növényi táplálékkal a szervezetünkbe jutó polifenolok ugyanis sem minőségi, sem mennyiségi szempontból sem reprezentálják azt a mennyiséget és azokat a polifenolformákat, melyekhez vélhetően a biológiai hatás társul.

A minőségi különbségek annak köszönhetőek, hogy a növényekben előforduló „kiindulási” polifenolformák (pl.: polifenol szacharid-konjugátumok) az emésztési folyamatok során átalakulnak mielőtt a tápcsatornából felszívódnak. Ennek eredményeképpen a vérkeringésben megjelenő formák eltérőek lesznek azokhoz a kiindulási formákhoz képest, amit elfogyasztottunk. Az átalakulási folyamatok (metabolikus utak) egy része, egyre több polifenol esetén ismert. [14] Ugyanakkor fontos kihangsúlyozni, mára már egyértelmű bizonyítást nyert, hogy a polifenolok emésztése során a metabolizmusban kulcs szerepe van a vastagbél mikrobiótának, azaz az emberi vastagbéltraktusban élő összetett baktériumközösségnek. [15]. Az is ismert, hogy a vékonybélből történő felszívódás és a humán enzimek közreműködésével bekövetkező metabolizmus jelentősen kisebb arányú, mint a mikrobiota hozzájárulása a polifenolok hasznosításához. Vagyis a vastagbél mikrobióta közreműködésével létrejövő anyagcseretermékek teszik ki az emésztés során keletkező anyagcseretermékek jelentősebb részét. A mikrobiális metabolizmusnak ma még csak néhány alapelve ismert és e terület vizsgálata forró téma a polifenolkutatásban. Ami a mennyiségi viszonyokat illeti a táplálékként bevitt mennyiség hasznosulása vélhetően nagyban függ a polifenolokkal együtt elfogyasztott számos élelmiszeralkotó metabolizmusra gyakorolt befolyásolhatja hatásától.

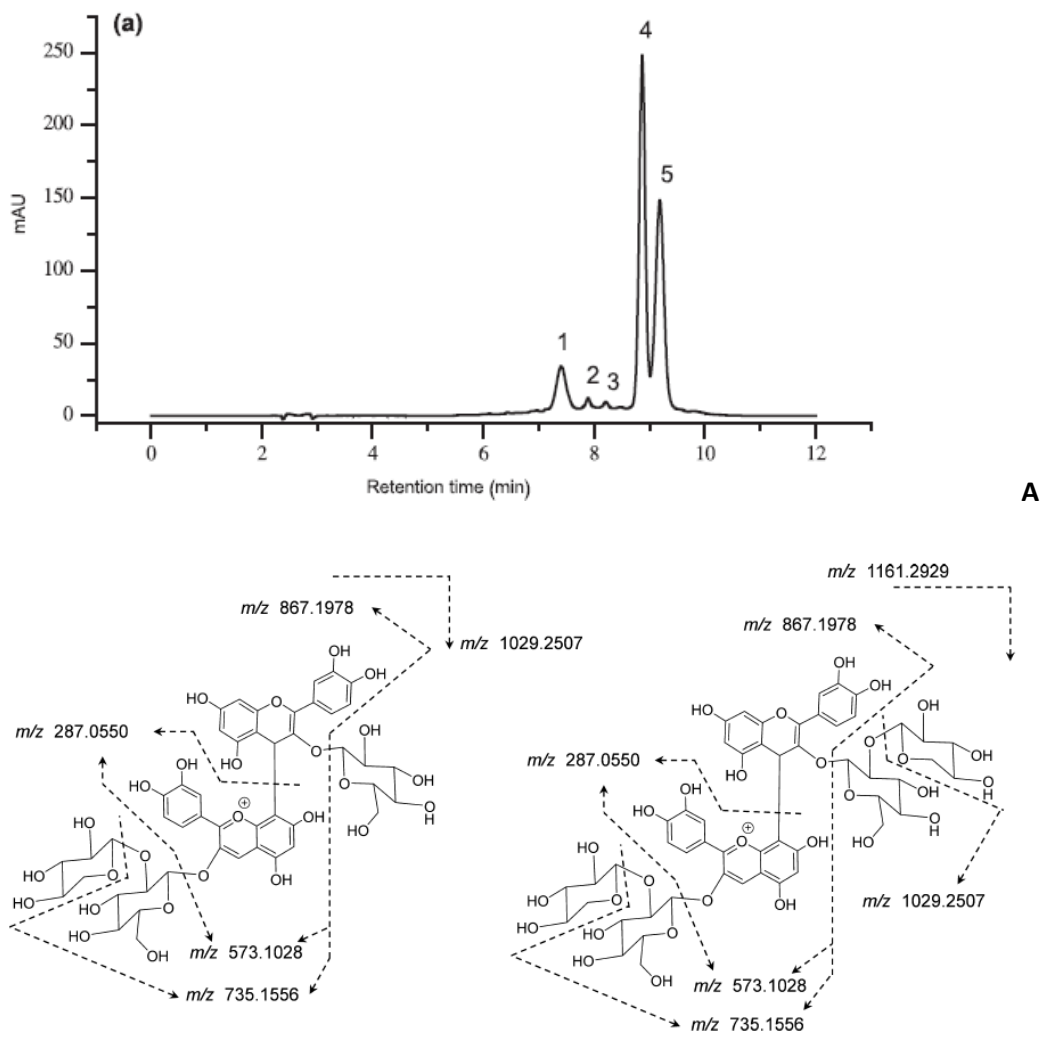
E kutatás keretében, a gent-i egyetemmel (Universiteit Gent) tervezett közös nemzetközi együttműködésben hajtottunk végre a mikrobiális emésztést is modellező *in vitro* kísérleteket. Ennek során néhány korábban polifenolkészlet szempontjából karakterizált kajszibarack és meggy minta emésztését hajtottuk végre. Ezen emésztési kísérletekből származó minták polifenolkészletének feltérképezését a kidolgozott módszerek segítségével végeztük el. A vizsgálatok eredményeképpen azonosítottunk 16 polifenolkomponenst, köztük mikrobiális anyagcseretermékeket. **Az eredményeinket egy nemzetközi konferencián tartott előadásban és Till Nóra diplomadolgozatában foglaltuk össze. [16, 17]** A mintákban feltehetően további polifenolokból származó metabolit is jelen lehetett, ezek meghatározását azonban nagyban nehezíti a mintákban jelen levő számos nem polifenolokból származó metabolit. A polifenolokból származó és a nem polifenolokból származó metabolitok elkülönítése további módszerfejlesztéseket és további eltérő beállítású emésztési kísérleteket igényelne, mely azonban túlmutat e kutatás keretein.

2.2.4 Elsőként leírt alkotók

E kutatás keretében elvégzett élelmi polifenolok és anyagcseretermékeik tömegspektrometriás vizsgálata során, előzetes feltevésünknek megfelelően, a kifejlesztett részletes vizsgálatokat lehetővé tevő módszerek segítségével több esetben is sikerült elsőként kimutatni egyes polifenolokat az általunk vizsgált mintatípusokból. A meggy esetén kapott eredmények közül kiemelendő, hogy a vizsgált 12 fajta közül 4 esetében, háromféle genisztein-származékot is azonosítani tudtunk. A genisztein, az izoflavonok csoportjához tartozó polifenol. Több eltérő mechanizmus alapján kifejtett, egészségre gyakorolt jótékony hatásait számos kísérletben igazolták. Genisztein bevitel esetén megfigyelhető például, hogy javul a vér lipidösszetétele, csökken a vérnyomás és ezáltal szív-érrendszeri védő hatást fejt ki. [18] A genisztein szintén ígéretes terápiás hatóanyagának bizonyult (főként javuló) diabétesz és elhízás esetén. [19] Ugyanakkor a legtöbb olyan tanulmány, mely a genisztein jótékony hatásait vizsgálja, a rákmegelőző tulajdonságaira összpontosít. Megfigyelték, hogy a genisztein apoptózist válthat ki különféle hematológiai rákos sejteknél, miközben védi az egészséges sejteket. Hatásos sejtnövekedés-gátlóként viselkedett *in vitro* kísérletekben mell- prosztata-

hasnyálmirigy- bőr- és veserákos [20] valamint vastagbélrákos sejtek esetében. [21] A felismerés, hogy egyes meggyfajták jelentékeny mennyiségben tartalmaznak genisztein származékokat azért újszerű, mert a genisztein előfordulását eddig szinte kizárólag szójában, illetve szójanövény alapú élelmiszerekben mutatták ki. [22] Az Európai étrendben kevésbé elterjedt szója alternatívájaként így egyes meggyfajták, mint lehetséges genisztein-források jelentősebb szerephez juthatnak a funkcionális élelmiszerek között. **A meggyekben azonosított és mennyiségileg is meghatározott genisztein komponensekkel kapcsolatos eredményeket a szakterület egyik meghatározó folyóiratában, a *Food Chemistry*-ben közzétették. [23]**

A bodza antocianinek vizsgálata során szintén sikerült olyan alkotókat találni, melyek leírását elsőként tettük meg. A természetes színezőanyagként az iparban alkalmazott bodzagyümölcs-sűrítmény előállítása során, két olyan antocianin származékot találtunk, melyek az eredeti gyümölcsben nem voltak jelen. (4A. ábra)



4. ábra Az egyik vizsgált bodzafajta gyümölcs extraktumának 520 nm-en felvett HPLC-UV kromatogramja (A) a 2. és 3. csúcs a sűrítményelőállítás során keletkezett. Ezek feltételezett szerkezetét és fragmentációs útjait nagy felbontású Q/TOFMS kísérletekkel állapítottuk meg. (B)

A technológia során, a hőközlési lépéskor vélhetően nukleofil kondenzációval keletkező dimerek feltételezett szerkezetét és framgmentációs sajtságait a **4B ábrán** szemléltetjük. Ezeket az eredményeket a korábban már említett *Int J Food Science and Technol* folyóiratban közöltük. [10]

A kajsziarackok hidroxifahéjsav származékainak profilozása során leírt 10 kinasav-hidroxifahéjsav észter közül a közlemények többségében csupán a két fő klorogénsav (kinasav-3-*O*-kávésav és kinasav-5-*O*-kávésav) alkotót említik. Egyetlen általam ismert tanulmányban további két (kinasav-3-*O*-kávésav és kinasav-3-*O*-*p*-kumársav) klorogénsavat említenek. [24] Ezeken túlmenően e kutatásunk eredményeképpen további hat klorogénsavat írtunk le elsőként kajsziában, melyek a következők voltak: kinasav-3-*O*-*cis*-kávésav (*cis*-3-CQA), kinasav-5-*O*-*cis*-kávésav (*cis*-5-CQA), kinasav-3,5-*O*-dikávésav (3,5-diCQA), kinasav-4-*O*-*p*-kumársav (4-*p*CoQA), kinasav-3-*O*-ferulasav (3-FQA) és kinasav-3-*O*-*cis*-ferulasav (*cis*-3-FQA). Ezek közül, érdekességképpen kiemelendők a *cis* hidroxifahéjsavat tartalmazó kinasav észterek, melyek vélhetően a kajsziagyümölcsöt ért UV fény behatására keletkeznek az eredetileg jelen lévő *trans* formából. Az általunk alkalmazott azonosítási módszer további sajtsága, hogy referenciastandardok hiányában, az irodalomban részletesen jellemzett kávébabot alkalmaztuk referenciaanyagként. Ezeket az eredményeinket a módszertani leírást is tartalmazó, korábban már említett *J Mass Spectrometry* cikkben közöltük. [3]

3 A kutatás szervezési és kivitelezési aspektusai

Végezetül meg kell említenem, hogy a fenti eredmények ellenére, a projekt kivitelezése nem volt zökkenőmentes. A 2013-as évben a Budapesti Corvinus Egyetemen kialakult anyagi és szervezeti válság teremtette ellehetetlenült munkavégzési körülmények (pl.: nem költhető OTKA támogatás) miatt, 2014. február 1-től munkahelyet váltottam és az OTKA 100506 azonosítójú kutatást az MTA Természettudományi Kutatóközpont, Szerves Kémiai Intézetébe átvittem. Az MTA TTK 2014. év első felében lezajlott költözése érintette új befogadó kutatócsoportom működését is. Ebből következően az operatív tevékenységünk 2014. március elejétől – május végéig, a műszerek és a laboratórium költöztetése, illetve az új laboratóriumok kialakítása miatt gyakorlatilag szünetelt. Kísérletes tevékenységet ez idő alatt nem tudtam végezni. Mindeközben egy ERC Advanced Grant által támogatott kutatási programban való részvételre kaptam egy 1 éves megtisztelő meghívást. Ezt elfogadva, 2014. szeptemberétől Angliában folytattam kutatói munkámat. A fenti változások miatt, szüneteltetésre és hosszabbításra vonatkozó kérelmet nyújtottam be. Az OTKA Bizottság elnöke hozzájárult a PD 100506 számú OTKA kutatási támogatásnál a kért határidő hosszabbításához és az egy év szüneteltetéshez. A kérelem értelmében a projekt új zárási ideje 2016.12.31., a szüneteltetés időszaka pedig 2014.09.01.-2016.08.31. Hazatérésemkor 2016 őszén, az MTA TTK anyagi helyzete nem tette lehetővé, hogy a kutatást ott folytassam. A munka folytatására ismét azon a kutatóhelyen kaptam lehetőséget, ahol eredetileg a projekt indult. Időközben az egykori Budapesti Corvinus Egyetem Élelmiszertudományi Karából, Szent István Egyetem Élelmiszertudományi Kar lett. A kutatás befejező szakaszában, a kutatásra kapott előfinanszírozott támogatás felhasználása a rendkívül lassú kutatástámogatási adminisztratív folyamatoknak köszönhetően ismét nem valósulhatott meg teljes mértékben. A fent említett szervezési és kivitelezési aspektusok miatt számos módosítási és méltányossági kérelem kísérte e pályázat útját és végeredményben mintegy 4Mft kutatásra megítélt támogatás, adminisztratív tehetetlenkedés miatt nem kerülhetett felhasználásra. Végezetül fontosnak tartom megjegyezni, hogy a fenti kutatási eredmények, melyek jelentős részében fedik az előzetesen elvárt eredményeket, a fenti okok miatt az eredetileg tervezettnél jelentősen kevesebb pénzből valósultak meg. Ez nem jelenti azonban az eredeti költségterv túlzó mivoltát, csupán azt, hogy a forintban nem mérhető elhivatottság, a külföldi együttműködő partner részéről mutatott tudományos érdeklődés, kollegialitás és jóindulat pótolta ki a hiányzó összeget.

4 A kutatás eredményeit tartalmazó közlemények

Impaktfaktoros folyóiratcikkek:

1. Szalóki-Dorkó, L.; Stéger-Máté, M.; Abrankó, L., Effects of fruit juice concentrate production on individual anthocyanin species in elderberry. *International Journal of Food Science & Technology* 2016, 51, 641-648.
2. Nagy, Á.; Abrankó, L., Profiling of hydroxycinnamoylquinic acids in plant extracts using in-source CID fragmentation. *Journal of Mass Spectrometry* 2016, 51, 1130-1145.
3. Szalóki-Dorkó, L.; Stéger-Máté, M.; Abrankó, L., Evaluation of colouring ability of main European elderberry (*Sambucus nigra* L.) varieties as potential resources of natural food colourants. *International Journal of Food Science & Technology* 2015, 50, 1317-1323.
4. Kocsis, M.; Abrankó, L.; Ayaydin, F.; Csepregi, K.; Papp, N.; Teszlák, P.; Jakab, G., Main Leaf Polyphenolic Components of Berry Color Variant Grapevines and Their Acclimative Responses to Sunlight Exposure. *Applied Sciences* 2015, 5, 1955-1969. **(Open access)**
5. Abrankó, L.; Szilvássy, B., Mass spectrometric profiling of flavonoid glycoconjugates possessing isomeric aglycones. *Journal of Mass Spectrometry* 2015, 50, 71-80.
6. Abrankó, L.; Nagy, Á.; Szilvássy, B.; Stefanovits-Bányai, É.; Hegedűs, A., Genistein isoflavone glycoconjugates in sour cherry (*Prunus cerasus* L.) cultivars *Food Chemistry* 2015, 166, 215-222.

Egyéb közlemények:

1. Mayta-Apaza, A.; Pottgen, E.; De Bodt, J.; Abranko, L.; Van de Wiele, T.; Lee, S.-O.; Carbonero, F. In *Modulation of the Gut Microbiota by Tart Cherries Consumption: In vitro and Human Dietary Intervention Studies*, International Association of Food Protection, IAFP 2016 St.Louise, Missouri USA, 31 July-3 August 2016, 2016; St.Louise, Missouri USA, 2016; p 191.
2. Szalóki-Dorkó, L.; Csizmadia, G.; Abrankó, L.; Stéger-Máté, M., Examination of Anthocyanin Content of Some Elderberry Cultivars Grown in Hungary. *Acta Horticulturae* **2015**, 1061, 79-86.
3. Szalóki-Dorkó, L.; Abrankó, L.; Stéger-Máté, M. In *Colour stability of elderberry concentrates in natural yoghurt*, Food Science Conference Budapest, 18-19 November, 2015; Budapest, 2015; pp 229-232.
4. Kocsis, M.; Csepregi, K.; Hideg, É.; Papp, N.; Abrankó, L.; Teszlák, P.; Jakab, G., Phenolic profile and antioxidant capacity of leaves, berry skins and seeds of Goher white (*Vitis Vinifera* L.) In *19th GiESCO Meeting* Gruissan, France, 2015.
5. Szkiba, Z.; Papp, N.; Van de Wiele, T.; Abrankó, L. In *Bioaccessibility study of fruit polyphenols using an in vitro digestion model and HPLC-ESI-Q-TOFMS profiling*, 32nd Informal Meeting on Mass Spectrometry, Balatonszárszó, Hungary, 11-14 May, 2014; Balatonszárszó, Hungary, 2014; p 76.
6. Szalóki-Dorkó, L.; Légrádi, F.; Abrankó, L.; Stéger-Máté, M., Effects of food processing technology on valuable compounds in elderberry (*Sambucus nigra* L.) varieties. *Acta Biol Szeged* **2014**, 58, 45-48.
7. Szalóki-Dorkó, L.; Légrádi, F.; Abrankó, L.; Stéger-Máté, M. In *Effects of food processing technology on valuable compounds in Elderberry (Sambucus nigra L.) varieties*, International Conference on Science and Technique Based on Applied Fundamental Research (ICOSTAF) Szeged, Hungary, 2014; Szeged, Hungary, 2014.

8. Papp, N.; Hegedűs, A.; Stefanovits-Bányai, É.; Abrankó, L. In *A meggy polifenolos komponenseinek azonosítása, OXIDATÍV STRESSZ SZEREPE NÉPBETEGSÉGEKBEN*, A Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság rendezvénye. Munkaértekezlet. , Budapest, 2014.04.18, 2014; Blázovics, A.; Somogyi, A., Eds. Budapest, 2014; p 17.
9. Papp, N.; Hegedűs, A.; Stefanovits-Bányai, É.; Abrankó, L., Differences in the flavonoid profile of Hungarian sour cherry genotypes. In *Plant Biology Europe FESPB/EPSO Congress 2014*, Dublin, Ireland, 2014; p 201.
10. Kocsis, M.; Papp, N.; Abrankó, L.; Csepregi, K.; Radványi, L.; Martin Pour, N.; Hideg, É.; Jakab, G. In *Changes in grapevine leaf anatomy and polyphenolic composition during adaptive responses to different solar irradiation*, 11th Congress of the Hungarian Society of Plant Biology, Szeged, Hungary, 27-29 August, 2014; Szeged, Hungary, 2014.
11. Szalóki-Dorkó, L.; Stéger-Máté, M.; Abrankó, L. In *Variety dependent anthocyanin profiles of elderberry (Sambucus nigra L) cultivars*, Food Science Conference 2013, Budapest, 2013; Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar: Budapest, 2013.
12. Nagy, Á.; Besnyő, D.; Hegedűs, A.; Abrankó, L. In *Comprehensive screening of polyphenol content of apricot fruits (Prunus armeniaca) cultivated in Hungary*, Food Science Conference 2013, Budapest, 2013; Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar: Budapest, 2013.
13. Dorkó, L.; Stéger-Máté, M.; Abrankó, L., Investigation of Elderberry (Sambucus nigra L.) cultivars, distinguished sources of natural food colorants. In *7th World Congress on Polyphenols Applications*, Edeas, M.; Scheiber, A., Eds. ISANH: Bonn, Germany, 2013; p 39.
14. Dorkó, L.; Stéger-Máté, M.; Abrankó, L., Investigation of elderberry (Sambucus nigra L.) cultivars a distinguished source of natural food colorant. In *II. Interdisciplinary Doctoral Conference*, Pécs, Hungary, 2013; pp 255-256.
15. Dorkó, L.; Csizmadia, G.; Abrankó, L.; Stéger-Máté, M., Examination of anthocyanin content of some elderberry varieties in Hungary. In *The First International Symposium on Elderberry*, Columbia, Missouri, USA, 2013.
16. Abrankó, L. In *Célzott és kereső tömegspektrometriás vizsgálati eljárások*, 353. MTA-KÉKI Tudományos Kollokvium, Budapest, November 29, 2013; Budapest, 2013.
17. Szilvássy, B.; Abrankó, L., Izomer aglikonokkal rendelkező flavonoid-glikokonjugátumok tömegspektrometriás profilozása. In *MKE Tömegspektrometriás Társaság Szakmai Nap*, Budapest, 2012.
18. Nagy, Á.; Abrankó, L., Zöld kávébab (Coffea Arabica L.) kinasav-származékainak folyadékromatográfiás-tömegspektrometriás feltérképezése. In *Táplálkozástudományi Kutatások II*, Kaposvár, 2012.
19. Nagy, Á.; Abrankó, L., Liquid chromatography-high-resolution mass spectrometric profiling of chlorogenic acids in green coffee beans of Coffea arabica L. In *Pumpaya 2012*, Podesdorf, Austria, 2012.
20. Dorkó, L.; Stéger-Máté, M.; Abrankó, L., Bodzalé, mint természetes élelmiszerszínezék. In *Táplálkozástudományi Kutatások II* Kaposvár, 2012.

5 Irodalomjegyzék

1. Rodriguez-Mateos, A., et al., *Bioavailability, bioactivity and impact on health of dietary flavonoids and related compounds: an update*. Archives of Toxicology, 2014. **88**(10): p. 1803-1853.
2. Williamson, G. and C. Manach, *Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies*. American Journal of Clinical Nutrition, 2005. **81**(1): p. 243S-255S.
3. Nagy, Á. and L. Abrankó, *Profiling of hydroxycinnamoylquinic acids in plant extracts using in-source CID fragmentation*. Journal of Mass Spectrometry, 2016. **51**(12): p. 1130-1145.
4. Mills, C.E., et al., *In vitro colonic metabolism of coffee and chlorogenic acid results in selective changes in human faecal microbiota growth*. British Journal of Nutrition, 2015. **113**(8): p. 1220-1227.
5. Del Rio, D., et al., *Dietary (poly)phenolics in human health: Structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases*. Antioxidants and Redox Signaling, 2013. **18**(14): p. 1818-1892.
6. Abrankó, L. and B. Szilvássy, *Mass spectrometric profiling of flavonoid glycoconjugates possessing isomeric aglycones*. Journal of Mass Spectrometry, 2015. **50**(1): p. 71-80.
7. Papp, N., *Csonthéjas gyümölcsök antioxidáns kapacitásának és a meggy polifenol-mintázatának vizsgálata*, in Kerpely Kálmán Doktori Iskola. 2014, Debreceni Egyetem.
8. Papp, N., et al., *Antihyperlipidemic Effects of Sour Cherries Characterized by Different In Vitro Antioxidant Power and Polyphenolic Composition*. Plant Foods for Human Nutrition, 2015.
9. Nagy, Á., *Kajszi gyümölcsök (Prunus armeniaca L.) polifenol készletének átfogó tömegspektrometriás feltérképezése*, in Élelmiszertudományi Doktori Iskola. 2016, Szent István Egyetem: Budapest.
10. Szalóki-Dorkó, L., M. Stéger-Máté, and L. Abrankó, *Effects of fruit juice concentrate production on individual anthocyanin species in elderberry*. International Journal of Food Science & Technology, 2016. **51**: p. 641-648.
11. Szalóki-Dorkó, L., M. Stéger-Máté, and L. Abrankó, *Evaluation of colouring ability of main European elderberry (Sambucus nigra L.) varieties as potential resources of natural food colourants*. International Journal of Food Science & Technology, 2015. **50**(6): p. 1317-1323.
12. Szalóki-Dorkó, L., *Fekete bodza színanyagok átfogó analitikai vizsgálata élelmiszertechnológiai eljárások során*, in Élelmiszertudományi Doktori Iskola. 2016, Szent István Egyetem: Budapest.
13. Kocsis, M., et al., *Main Leaf Polyphenolic Components of Berry Color Variant Grapevines and Their Acclimative Responses to Sunlight Exposure*. Applied Sciences, 2015. **5**(4): p. 1955-1969.
14. Crozier, A., D. Del Rio, and M.N. Clifford, *Bioavailability of dietary flavonoids and phenolic compounds*. Molecular Aspects of Medicine, 2010. **31**(6): p. 446-467.
15. Selma, M.V., J.C. Espín, and F.A. Tomás-Barberán, *Interaction between phenolics and gut microbiota: Role in human health*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009. **57**(15): p. 6485-6501.
16. Till, N., *Természetes növényi polifenolok emésztőrendszeri metabolizmusának vizsgálata tömegspektrometriás módszerrel*, in Alkalmazott Kémia Tanszék. 2016, Szent István Egyetem: Budapest.
17. Szkiba, Z., et al. *Bioaccessibility study of fruit polyphenols using an in vitro digestion model and HPLC-ESI-Q-TOFMS profiling*. in 32nd Informal Meeting on Mass Spectrometry. 2014. Balatonszárszó, Hungary.
18. Schwab, K., et al., *Dietary genistein enhances phosphorylation of regulatory myosin light chain in the myocardium of ovariectomized mice*. Electrophoresis, 2012. **33**(12): p. 1795-1803.

19. Behloul, N. and G. Wu, *Genistein: A promising therapeutic agent for obesity and diabetes treatment*. European Journal of Pharmacology, 2013. **698**(1–3): p. 31-38.
20. Papp, N., et al., *Main quality attributes and antioxidants in Hungarian sour cherries: identification of genotypes with enhanced functional properties*. International Journal of Food Science & Technology, 2010. **45**(2): p. 395-402.
21. Kim, G.N., et al., *Isoflavone content and apoptotic effect in HT-29 cancer cells of a soy germ extract*. Food Chemistry, 2012. **130**(2): p. 404-407.
22. Bhagwat, S., D.B. Haytowitz, and J.M. Holden, *USDA Database for the Isoflavone Content of Selected Foods*, A.R.S. U.S. Department of Agriculture, Editor. 2008: Beltsville, Maryland.
23. Abrankó, L., et al., *Genistein isoflavone glycoconjugates in sour cherry (*Prunus cerasus* L.) cultivars* Food Chemistry, 2015. **166**(1): p. 215-222.
24. Schmitzer, V., et al., *Comparative study of primary and secondary metabolites in apricot (*Prunus armeniaca* L.) cultivars*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2011. **91**(5): p. 860-866.