

Doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

Kőszegi Lászlóné

Budapest

2020



Szent István Egyetem

**A nagy csalán (*Urtica dioica* L.) extraktumainak
és bioaktív komponenseinek vizsgálata**

Kőszegi Lászlóné

Budapest

2020

Szent István Egyetem – Élelmiszertudományi Doktori Iskola

Megnevezése: Élelmiszertudományi Doktori Iskola

Tudományága: Élelmiszertudományok

Vezetője: **Simonné Dr. Sarkadi Livia**

Egyetemi tanár, rektorhelyettes, DSc
Szent István Egyetem
Élelmiszertudományi Kar
Élelmiszerkémiai és Táplálkozástudományi Tanszék

Témavezető **Békássyné Dr. Molnár Erika**

Professor emerita, DSc
Szent István Egyetem
Élelmiszertudományi Kar
Élelmiszeripari Műveletek és Gépek Tanszék

A doktori iskola- és a témavezető jóváhagyó aláírása:

A jelölt a Szent István Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, a műhelyvita során elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, ezért az értekezés védési eljárásra bocsátható.

.....
Iskolavezető jóváhagyása

.....
Témavezető jóváhagyása

A munka előzményei, kitűzött célok

A fejlett országokban az élelmiszerek szerepe az elmúlt évtizedekben nagyon megváltozott. A fogyasztók ízletes tápanyagként történő felhasználásuk mellett egészségvédő és betegség-megelőző szerepükre is egyre jobban kezdenek odafigyelni. Az olyan élelmiszereket, melyeket gyakran egészségvédő hatóanyagokkal is dúsítanak, funkcionális élelmiszereknek nevezzük.

Munkám célja a nagy csalán (*Urtica dioica* L.) levelének és gyökerének értékes, biológiailag aktív komponenseinek felkutatása, és egy olyan extraktum készítése, amely kedvező antimikrobás és redukáló hatásának köszönhetően tinktúra (esetleg por) alakban alkalmas lehet élelmiszerbiztonsági szempontból is funkcionális élelmiszerként, élelmiszer-összetevőként, illetve a különböző technológiai/feldolgozási eljárásokon keresztül esett termékek természetes adalékanyagaként való felhasználására, ezenkívül az élelmiszerfeldolgozás során a mikrobiológiai védelemben is fontos szerepet játszhat.

Célom volt megvizsgálni, hogy négy ismert oldószer közül melyik a legalkalmasabb a nagy csalán antioxidáns- és antimikrobás hatást okozó összetevőinek kioldásához. Mennyi ideig és milyen hőmérsékleten kell ehhez végezni az extrakciót? Az év mely időszakában kell gyűjteni a növény levelét, illetve érdemes-e csalángyökér extraktumot készíteni?

Kísérleteim során ezzel összefüggésben számos kérdésre szándékoztam választ kapni:

- A szuperkritikus-, Soxhlet-, és egyszerű extrakciós módszerek, a beállítható műveleti paraméterek (nyomás, hőmérséklet, extrahálási idő) és a különféle módszerekhez tartozó oldószer (szuperkritikus állapotú CO₂, etanol, hexán és víz) segítségével hogyan tudok elérni maximális extraktum-mennyiséget?
- Egy adott oldószer milyen mértékben kedvez a polifenolok kinyerésének, illetve segítségével mekkora antioxidáns/ redukáló kapacitást tudok kimutatni levél illetve gyökér esetében?
- Vizsgálni szándékoztam, hogy a növény vegetációs időszakának melyik fenológiai fázisa a legalkalmasabb a levelek és gyökerek gyűjtésére ahhoz, hogy a teljes polifenoltartalom (TPC) és antioxidáns/redukáló kapacitás (FRAP, DPPH) a legnagyobb legyen.
- Mikrobiológiai kísérletek végzésével vizsgáltam, hogy milyen módszerrel, oldószerrel, milyen műveleti paraméterek beállítása mellett és milyen koncentrációjú extraktumok esetében tudok kimutatni antimikrobás hatást élelmiszerbiztonsági és gyógyászati szempontból fontos mikroorganizmusok ellen. Pozitív eredmény esetén összefüggést szándékoztam keresni az extraktumok antimikrobás hatása, és a hatásért nagy valószínűséggel felelős komponensek között.

Anyagok és módszerek

Anyagok

Növényi alapanyagok

Alapanyagként a nagy csalán (*Urtica Dioica* L.) gyökerét és levelét használtam fel, melynek növénytani azonosítása Dr. Radácsi Péter, a SZIE KERTK Gyógy- és Aromanövények Tanszékének adjunktusa segítségével történt. A növényi mintákat 4 fenológiai fázisban Közép-Magyarország, Vál, akácós erdős terület részén gyűjtöttem.

Extrakciós oldószerek

Desztillált víz, etanol, n-hexán, szuperkritikus állapotú CO₂.

Sztenderdek a HPLC-hez

pirokatekin, kvercetin, kvercitrin, rutin, katekin, epikatekin, klorogénsav, fahéjsav, dihidrobenzoésav, sziringinsav, vanilinsav, ellágsav

Az antimikrobás hatás vizsgálatához felhasznált mikroorganizmusok

Candida albicans, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Listeria innocua*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*

Munkám során alkalmazott műveletek és vizsgálatok

Műveletek: szárítás, aprítás, szitálás, vákuum szűrés, extrakció (egyszerű, Soxhlet, szuperkritikus), bepárlás.

Vizsgálatok: szárazanyag-tartalom-, szemcseméret-, extrakciós kihozatal meghatározása. TPC, FRAP, DPPH, polifenol profil mérése HPLC-s módszerrel, és antimikrobás hatás vizsgálata.

Mintaelőkészítések

Szárítás:

A friss növényi részek szárítását -gyökér esetében alapos mosás után- fénytől védett levegős helyen körülbelül 30 °C hőmérsékleten végeztem 2-3 hétig.

Extraktumaim szárazra párlását rotációs vákuum bepárló készülékkel végeztem, illetve szárítószekrényben valósítottam meg 80 °C-on 24 órán keresztül tömegállandóságig.

Aprítás

A friss növényi részeket először metsző ollóval durvára aprítottam, majd késes darálóval (BOSCH TSM6A013B) folytattam a darabolást. A szárított növényi részek aprításához laboratóriumi késes aprítót (Retsch GM 200 Grindomix) illetve laboratóriumi rázó-golyós malmot (MM 400) használtam.

Extrakciók

Az extrakciók célja értékes anyagokat tartalmazó tinktúra előállítás, a legnagyobb kihazatalok parmétereinek meghatározása, majd a termékek kémiai és mikrobiológiai bevizsgálása volt.

- Az egyszerű extrakciót keverős duplikátorban mértem, illetve Memmert vízfürdőt használtam.
- A Soxhlet extrakciót laboratóriumi méretű Soxhlet extraktorban végeztem
- A szuperkritikus extrakciót (SFE) félüzemi berendezésen mértem. A száraz aprított drogon átvezetett nagynyomású szuperkritikus állapotú szén-dioxid oldja ki az anyagokat, majd a nyomás megszüntetésével a szeparátorban a szén-dioxid távozik az extraktumból.

Szárazanyag-tartalom meghatározása

A minták szárazanyag-tartalmának meghatározását kétféleképpen történt: Szárítószekrényben 105 °C-on 24 órán keresztül a szuperkritikus- és a Soxhlet extrakció előtt, illetve egyszerű egyszeri extrakció előtt KERN MLS 50-3HA160 gyorsnedvességmérővel.

Szemcseméret meghatározása

Az aprított minták szemcse-eloszlásának meghatározása kétféleképpen történt. Egyrészt laboratóriumi szitarázó segítségével, ekkor a kiértékelést RRSB (Rosin-Rammler-Sperling-Bennet) módszerrel végeztem, meghatároztam az aprított halmaz jellemző szemcseméretét, egyenletességi tényezőjét és fajlagos felületét. Másrészt lézer-diffrakciós berendezéssel határoztam meg a szemcse-eloszlást és számítottam az előbb felsorolt adatokat.

Kihazatalok meghatározása

Az extrakciós kihazatalok meghatározásához a kapott extraktumot minden esetben szárazra pároltam, majd megmértem a tömegét. Az eredményt a bemért anyag szárazanyag-tartalmára vonatkoztatva, %-ban adtam meg.

Analitikai méréseim módszerei

- Teljes polifenol-tartalom meghatározása (TPC)
- Antioxidáns/redukáló kapacitás meghatározása (FRAP)
- Antioxidáns/redukáló kapacitás meghatározása (DPPH)
- HPLC-s mérés, a rutin-, és kvercetin mennyiségének meghatározására

Mikrobiológiai vizsgálataim módszerei

- antimikrobás hatás meghatározása agarlyuk diffúzióval
- antimikrobás hatás meghatározása korong diffúzióval

Eredmények

Szárazanyag-tartalom meghatározása levél és gyökér esetében a bemért drogmennyiség %-ában

	Levél	Gyökér
Friss	18,25±0,84	22,90±0,90
Szárított	90,80±0,02	91,07±0,08

Szemcseméret meghatározása szitaanalízissel

A szitaanalízis eredményei alapján az aprított drog szemcse-eloszlását a Rosin-Rammler-Sperling-Bennet (RRSB) által kidolgozott szemcse-eloszlási függvényt modelleztem:

$$R(x) = 100 \exp[-(x/x_0)^n]$$

ahol $R(x)$ - szitamaradvány-összeg (%)
 x - szemcseméret (mm)
 x_0 - jellemző szemcseméret (mm)
 n - egyenletességi tényező (-)

A diagramokról leolvastam az aprított halmaz jellemző szemcseméretét x_0 (mm), egyenletességi tényezőjét n (-) és fajlagos felületének x_0 -lal vett szorzatát $F \cdot x_0$ (m^2/kg)*(mm). Adataimat a következő táblázatban mutatom be:

	x_0 (mm)	n	F (m^2/kg)
Levél	0,45±0,01	1,45±0,01	33,33±0,01
Gyökér	0,50±0,01	1,41±0,10	32,72±4,80

Szemcseméret meghatározása lézeres részecske mérővel

A berendezéssel a laboratóriumi aprító után golyós malommal őrölt drogok jellemző szemcseméretét (x_0), valamint a halmaz egyenletességi tényezőjét (n) és fajlagos felületét (F) a mért adatokból számítógépes programmal (FRITSCH, Program "analysette 22") értékeltem ki. (Eredményeimet a következő táblázatban mutatom be:)

	x_0 (mm)	n	F (m^2/kg)
Levél	0,04±0,001	3,05±0,16	359,37±3,42
Gyökér	0,15±0,001	1,18±0,02	119,46±0,27

A golyós malommal történt aprítás során lényegesen kisebb szemcseméreteket és sokszorosan nagyobb anyagátadási felületeket értem el, ami a későbbi mikrobiológiai kísérleteknél volt fontos.

Extrakciós kihozatalok eredményei

Háromféle extrakciós módszer esetében (egyszerű egyszeri extrakció, Soxhlet extrakció, és szuperkritikus extrakció) vizsgáltam az extraháló oldószer (víz, etanol, n-hexán, szuperkritikus

állapotú CO₂), hőmérséklet (egyszerű egyszeri: 60-80-100 °C), és a nyomás hatását (szuperkritikus extrakció: 100-450 bar), a kihozatal mennyiségére. A csalángyökérrel végzett szuperkritikus extrakciós eredmények alapján megállapítható, hogy a nyomás növelésével -100 bar-ról 450 bar-ra- a kihozatal mennyisége fokozható.

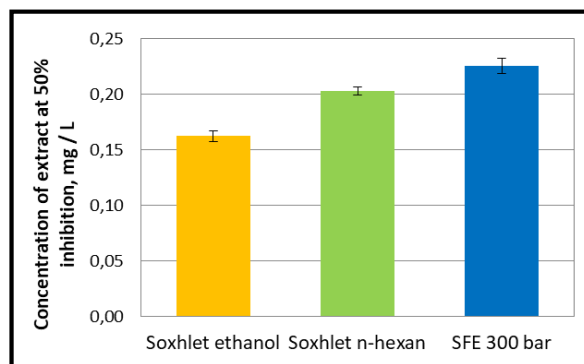
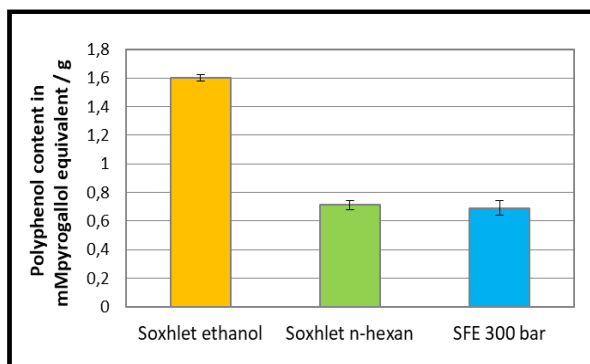
Az extrakciós kihozatalok összehasonlítását a következő táblázatban mutatom be.

Oldószer	Növényi minta		
	Kihozatal %		
	Szárított gyökér	Szárított levél	Friss levél
Szuperkritikus CO ₂ (100 - 450 bar)	0,32 - 0,61	1,11 - 1,52	-
Soxhlet n-hexán (ősz)	0,67 ± 0,12	-	-
Soxhlet n-hexán (tavasz)	0,77 ± 0,04	1,94 ± 0,07	-
Soxhlet etanol 96% (ősz)	7,78 ± 0,47	21,73 ± 1,47	-
Soxhlet etanol 96% (tavasz)	8,00 ± 0,48	18,13 ± 1,57	-
etanol 20% egyszerű egyszeri	15,49 ± 0,31	20,45 ± 0,77	33,55 ± 2,28
etanol 70% egyszerű egyszeri	12,87 ± 0,17	21,16 ± 0,27	32,63 ± 0,64
víz forrázás egyszerű egyszeri	14,18 ± 0,87	26,69 ± 0,83	42,25 ± 1,19
víz 60°C 3 óra egyszerű egyszeri	17,04 ± 1,74	33,02 ± 0,30	-
víz 80°C 3 óra egyszerű egyszeri	19,41 ± 1,35	29,85 ± 0,13	-
víz 100°C 3 óra egyszerű egyszeri	21,23 ± 0,29	31,13 ± 0,49	48,40 ± 3,20
etanol 50% egyszerű többszöri	-	25,46 ± 0,74	-
víz 80°C 3 óra egyszerű többszöri	20,45 ± 0,24	-	-

A különböző extrakciós módszerekkel elérhető kihozatal szárazanyag-tartalomra vonatkoztatva és tömeg%-ban megadva nagyságrendi eltéréseket mutathat elsősorban az oldószer, valamint kisebb mértékben az extrakciós idő, a hőmérséklet és a nyomás függvényében.

Analitikai méréseim eredményei

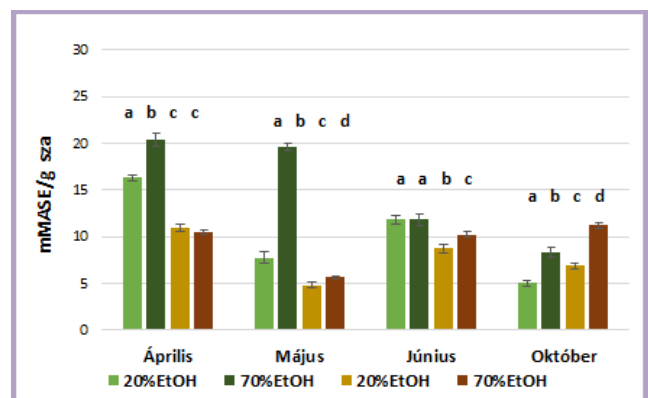
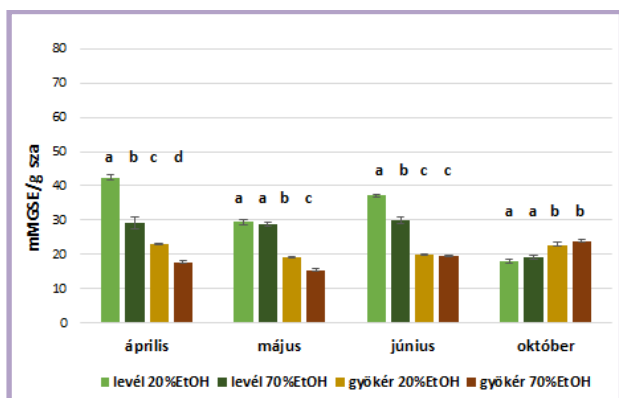
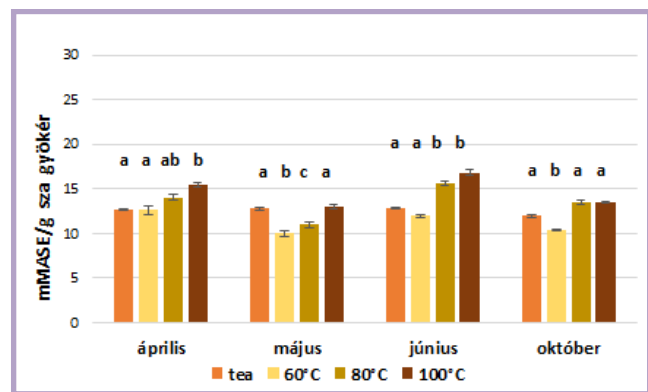
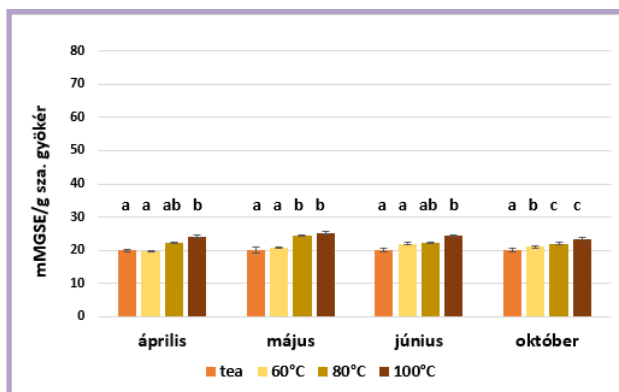
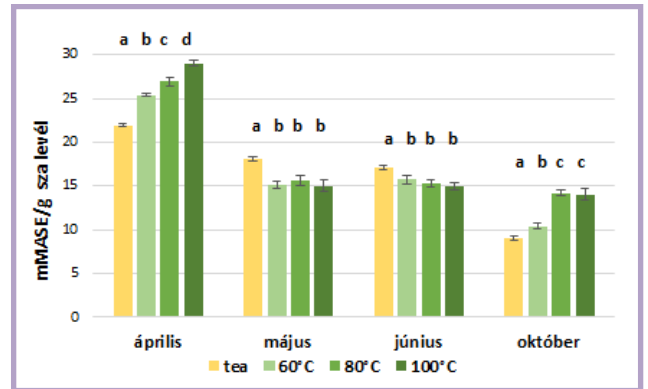
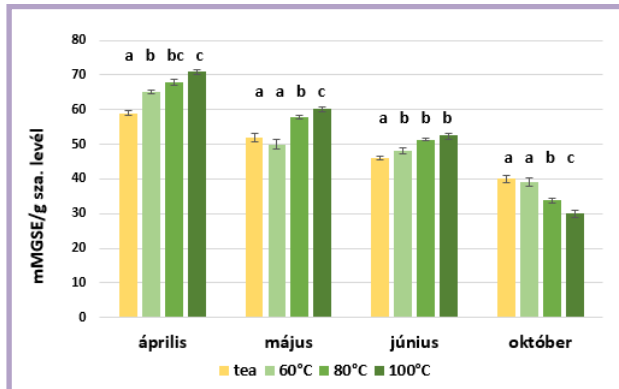
1. A teljes polifenol-tartalom-, és antioxidáns kapacitás összehasonlítása a különböző extrakciós módszerek esetében az alábbi diagramokon láthatók



Az első diagram alapján a Soxhlet extrakcióval készült 96%-os etanolos kivonatokban kb. kétszer akkora a teljes polifenoltartalom, mint a 95%-os hexán-, illetve szuperkritikus extraktumokban.

Ugyanezen kivonatok gyökfogó kapacitását DPPH módszerrel megmérve ezzel ekvivalens eredményt kaptam. Amíg az etanolos Soxhlet extrakcióval kinyert gyökér kivonatnak kisebb koncentrációja is elég a gyök 50 %-os gátlásához, addig a kisebb polifenoltartalmú hexános Soxhlet, vagy a szuperkritikus extrakcióval kinyert extraktumoknak nagyobb koncentrációja fejt ki ugyanazt a gátlást.

A növény fenológiai fázisainak hatása a teljes polifenoltartalomra mM galluszsav egyenérték/g szárazanyag (mMGSE/G szá) mértékegységben megadva és antioxidáns kapacitásra mM aszkorbinsav egyenérték/g száraz anyag (mMASE)/g szá-ban megadva friss növényi részek esetén



A csalán levelei a vegetáció teljes időtartama alatt nagyobb mennyiségben halmozják fel a polifenol-vegyületeket, mint a gyökök. Ezt az extrakciós oldószertől függetlenül meg lehet állapítani.

Az extrakciós hőmérséklet emelése az összes polifenol-tartalom és az antioxidáns kapacitás jelentős növekedését eredményezte. Ennek oka a polifenol-vegyületek további szintézise a másodlagos folyamatokban, javítva a redukáló aktivitást.

A levelek teljes polifenol-tartalma tavasztól ősziig csökkent. A gyökérzetben azonban a vegetáció végén a polifenol-tartalom enyhe növekedés mutatott.

A polifenolok kivonása szempontjából a víz alkalmasabb oldószer, mint az etanol. Határozottan hatékonyabb módszer a hosszabb extrahálási idő használata a teakészítéshez (infúzióhoz) képest.

A szárított növényi részek extraktumainak teljes polifenol-tartalma és antioxidáns kapacitása tavasszal és ősszel

		április	október	április	október
		TPC		FRAP	
		mMGSE/g szá		μMASE/g szá	
tea	levél	99,42±3,34	50,42±1,34	10,28±0,78	11,02±0,07
	gyökér	28,42±0,60	25,42±0,60	9,01±0,28	8,52±0,07
60°C víz	levél	97,23±1,70	29,20±0,94	10,86±0,18	11,87±0,06
	gyökér	20,87±0,52	12,23±0,47	10,43±0,45	6,79±0,03
80°C víz	levél	99,06±1,65	36,30±0,41	21,89±0,77	19,71±0,07
	gyökér	23,80±1,20	13,48±0,34	13,71±0,71	8,55±0,06
100°C víz	levél	106,64±4,21	38,37±0,53	28,57±0,52	25,32±0,13
	gyökér	28,79±1,06	18,78±0,35	15,32±0,57	10,89±0,03
20% etanol	levél	66,21±5,43	18,46±0,50	12,29±0,57	7,27±0,07
	gyökér	25,00±0,42	10,21±0,58	12,27±0,57	4,90±0,09
70% etanol	levél	34,82±1,86	11,28±0,55	10,38±1,59	10,67±0,11
	gyökér	24,14±0,41	15,59±0,37	11,68±0,85	5,80±0,09

A magasabb polifenolszint és antioxidáns tulajdonságok elérése érdekében a csalánleveleket ajánlott tavasszal, a vegetációs időszak elején betakarítani. A szárított levelek extrahálásával több redukáló vegyületet lehet kimutatni, mint a friss növényi anyag esetében, valószínűleg a szárított minták kisebb és homogénebb részecskemérete miatt.

Mikrobiológiai kísérleteim eredményei

A tavaszi gyűjtésű csalánlevelek 100 mg/ml szárazanyag koncentrációjú keverékeinek antimikrobás hatása a feltisztulási zóna átmérője (mm) és minősége alapján. Az agarlyuk átmérője 8 mm volt.

Mikroorganizmus		80 °C-os vizes extraktum	100 °C-os vizes extraktum	5%-os etanolos extraktum
<i>Candida albicans</i>	zóna mm			
	gátlás	nincs	nincs	nincs
<i>Candida glabrata</i>	zóna mm	18,0 ± 2,0	18,0 ± 1,0	
	gátlás	teljes	teljes	nincs
<i>Candida parapsilosis</i>	zóna mm			
	gátlás	nincs	nincs	nincs
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	zóna mm			
	gátlás	nincs	nincs	nincs
<i>Enterococcus faecalis</i>	zóna mm			14,0 ± 1,0
	gátlás	nincs	nincs	teljes
<i>Escherichia coli</i>	zóna mm	13,0 ± 1,5	14,5 ± 3,5	13,0 ± 4,0
	gátlás	részleges	részleges	teljes
<i>Listeria innocua</i>	zóna mm	10,0 ± 1,0		11,5 ± 0,5
	gátlás	teljes	nincs	teljes
<i>Listeria monocytogenes</i>	zóna mm	12,0 ± 0,0		
	gátlás	teljes	nincs	nincs
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	zóna mm	28,0 ± 0,0	23,0 ± 8,0	10,5 ± 0,5
	gátlás	teljes	teljes	teljes
<i>Staphylococcus aureus</i>	zóna mm	20,0 ± 6,5	21,0 ± 4,0	9,5 ± 0,5
	gátlás	teljes	teljes	teljes

Az őszi gyűjtésű csalánlevelek 100 mg/ml szárazanyag koncentrációjú keverékek antimikrobás hatása a feltisztulási zóna átmérője (mm) és minősége alapján. Az agarlyuk átmérője 8 mm volt.

Mikroorganizmus		80 °C-os vizes extraktum	100 °C-os vizes extraktum	5%-os etanolos extraktum
<i>Candida albicans</i>	zóna mm			
	gátlás	nincs	nincs	nincs
<i>Candida glabrata</i>	zóna mm	17,0 ± 0,5	16,5 ± 0,5	
	gátlás	teljes	teljes	nincs
<i>Candida parapsilosis</i>	zóna mm			
	gátlás	nincs	nincs	nincs
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	zóna mm	nincs	12,5 ± 0,0	
	gátlás	nincs	részleges	nincs
<i>Enterococcus faecalis</i>	zóna mm			
	gátlás	nincs	nincs	nincs
<i>Escherichia coli</i>	zóna mm	13,0 ± 0,0	13,0 ± 0,0	
	gátlás	részleges	részleges	nincs
<i>Listeria innocua</i>	zóna mm	12,0 ± 0,0	12,0 ± 0,0	
	gátlás	részleges	részleges	nincs
<i>Listeria monocytogenes</i>	zóna mm	15,0 ± 0,0	15,0 ± 0,0	
	gátlás	részleges	részleges	nincs
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	zóna mm			
	gátlás	nincs	nincs	nincs
<i>Staphylococcus aureus</i>	zóna mm	16,0 ± 0,0	15,0 ± 1,0	
	gátlás	részleges	teljes	nincs

A tavaszi gyökér minták és a kvercetin antimikrobás hatása a feltisztulási zóna átmérője (mm) és minősége alapján, 100 mg/ml szárazanyag koncentrációjú keverékeiben. Az agarlyuk átmérője 8 mm volt.

Gyökér				
Mikroorganizmus		80 °C-os vizes extraktum	100 °C-os vizes extraktum	5% etanol-vizes extraktum
<i>Candida albicans</i>	zóna mm			
	gátlás	nincs	nincs	nincs
<i>Candida glabrata</i>	zóna mm			
	gátlás	nincs	nincs	nincs
<i>Candida parapsilosis</i>	zóna mm			
	gátlás	nincs	nincs	nincs
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	zóna mm			
	gátlás	nincs	nincs	nincs
<i>Enterococcus faecalis</i>	zóna mm	17,0	17,0	
	gátlás	teljes	részleges	nincs
<i>Escherichia coli</i>	zóna mm			
	gátlás	nincs	nincs	nincs
<i>Listeria innocua</i>	zóna mm		18,0	
	gátlás	nincs	teljes	nincs
<i>Listeria monocytogenes</i>	zóna mm			
	gátlás	nincs	nincs	nincs
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	zóna mm	18,0		
	gátlás	részleges	nincs	nincs
<i>Staphylococcus aureus</i>	zóna mm			
	gátlás	nincs	nincs	nincs
Kvercetin				
Mikroorganizmus		vizes oldat 80 °C (20 µg/ml)		etanolos oldat (10 µg/ml)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	zóna mm	13,0 ± 1,0		11,0 ± 0,0
	gátlás	teljes		teljes

A csalánlevél és gyökérextraktumok közül a növény tavaszi és őszi fenológiai fázisában a levél-extraktumok mutattak erőteljesebb gátló hatást. Ezeknél a vizsgálatoknál a feltisztulási zóna minősége és nagysága szempontjából egyes esetekben eltérés volt a két különböző hőmérsékleten készített vizes kivonat között, ami az antimikrobás komponensek eltérő hőmérsékleti stabilitását mutatja.

A rutin esetében egyáltalán nem tapasztaltam gátlást, míg a kvercetin oldatának 80 °C-on volt antimikrobás hatása, de magasabb hőmérsékleten (100°C-on) antimikrobás hatást már nem tudtam kimutatni. Ezért mintáim antimikrobás hatásáért a rutin önmagában nem tehető felelőssé, a kvercetin hatása viszont érzékelhető a *Pseudomonas aeruginosa* baktériummal szemben.

Új tudományos eredmények-Tézisek

1. Kísérletekkel igazoltam, hogy a nagy csalán levelének és gyökerének extrakciója során a különböző extrakciós módszerekkel elérhető kihozatal szárazanyag-tartalomra vonatkoztatva és tömeg%-ban megadva nagyságrendi eltéréseket mutathat elsősorban az oldószer, valamint kisebb mértékben az extrakciós idő, a hőmérséklet és a nyomás függvényében. A kihozatali értékeket táblázatos formában közlöm.

	Szuperkritikus	Soxhlet	Soxhlet	Egyszerű egyszeri	Egyszerű egyszeri
	CO ₂	n-hexán	etanol	etanol	víz
Levél	1,1 - 1,5	1,8 - 1,9	18,1 - 21,7	20,5 - 21,2	26,7 - 31,1
Gyökér	0,3 - 0,6	0,7 - 0,8	7,8 - 8,0	12,9 - 15,5	14,2 - 21,2
Megjegyzés	100 bar - 450 bar	95%	96%	70% - 20%	(tea) 60-80-100 °C

2. Megállapítottam, hogy a polifenolok kinyerése és az abból következő antioxidáns/redukáló kapacitás oldószerfüggő, legjobb oldószer a víz, ezt követi az etanol majd a hexán és a hexánhoz közeli hatékonyságú szuperkritikus állapotú CO₂. A teljes polifenoltartalom értékeit egyszerű extrakciók esetén mMGE/g szá mértékegységben adom meg. A víz és etanol hatékonysága közötti eltérést levél és gyökérminták esetében és egyszerű egyszeri extrakcióknál a következő két táblázatban szemléltetem.

Levél	Egyszerű egyszeri	Egyszerű egyszeri
	etanol	víz
	30,1 - 19,1	71,0 - 30,0
Megjegyzés	2018. ápr-okt, 70%	2018. ápr-okt, 100 °C

Gyökér	Egyszerű egyszeri	Egyszerű egyszeri
	etanol	víz
	23,9 - 15,4	25,3 - 23,4
Megjegyzés	2018. ápr-okt, 70%	2018. ápr-okt, 100 °C

Az etanol-, n-hexán-, és szuperkritikus állapotú CO₂-dal készített extraktumok teljes polifenoltartalma közötti eltérést gyökérminták esetében mMpirogallol ekvivalens/g szárazanyag mértékegységben Soxhlet- és szuperkritikus extrakciónál a következő táblázatban szemléltetem.

Gyökér	Szuperkritikus	Soxhlet	Soxhlet
	CO ₂	n-hexán	etanol
	0,7	0,7	1,6
Megjegyzés	300 bar	95%	96%

3. A csalán teljes életciklusában -áprilistól októberig- végzett kísérletsorozattal kimutattam, hogy a teljes polifenol tartalom mMGSE/g szá dimenzióban kifejezve a koratavaszi növényben a legnagyobb. A vegetációs idő végére a polifenoltartalom a levélben fokozatosan csökken. A gyökérben ez a változás kevésbé érzékelhető, sőt egyes esetekben a vegetációs időszak során enyhe növekedés tapasztalható, amit a következő táblázatban mutatok be.

	Április				Május				Június				Október			
	tea	60 °C	80 °C	100 °C	tea	60 °C	80 °C	100 °C	tea	60 °C	80 °C	100 °C	tea	60 °C	80 °C	100 °C
Levél	59,0	65,0	68,0	71,0	52,0	50,0	57,9	60,3	46,1	48,1	51,4	52,6	40,0	39,0	33,8	30,0
Gyökér	20,0	19,8	22,3	24,2	20,0	20,7	24,5	25,3	20,0	22,0	22,2	24,3	20,0	21,0	22,0	23,4

Az extrakciós körülmények közül a hőmérséklet növelése és az extrakció időtartama a teljes polifenoltartalom és az azzal összefüggésbe hozható antioxidáns kapacitás növekedését eredményezte.

A polifenolos vegyületek mennyisége a levelekben lényegesen nagyobb, mint a gyökerekben. Az antioxidáns kapacitás szintén a levélben nagyobb, mint a gyökérben, de a vegetációs időszak végére mindkét esetben csökkenést mutat.

Az egészségvédő hatás szempontjából tehát a gyűjtésre, felhasználásra, fogyasztásra a tavaszi levelek ajánlatosak.

4. Mikrobiológiai kísérletekkel bizonyítottam, hogy a nagy csalán levelének 80 °C-os és 100 °C-os vizes extraktumai egyaránt antimikrobás hatást fejtenek ki a következő mikrobatorzsek szaporodására: *Candida glabrata*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Pseudomonas aeruginosa* és a *Staphylococcus aureus*. A pozitív eredmény eléréséhez szükség van -az extraktumok készítése előtt- a növényi részek 0,15 mm szemcsenagyság alatti aprítására.

Kimutattam, hogy a növény gyűjtésének ideje (április és október) -a feltisztulási zóna nagysága és minősége alapján- jelentősen befolyásolja az antimikrobás hatás alakulását. Tavaszi levélmintáknál a feltisztulási zóna nagysága alapján átlagosan 20-30%-kal nagyobb antimikrobás hatását tudtam kimutatni, mint az őszi mintáknál.

A levél vizes extraktumainak -a gyökéréhez viszonyítva- tavasszal is és ősszel is erősebb a gátló hatása.

Etanolos extraktumok esetében csak a tavaszi levélmintáknál tudtam gátlást kimutatni.

Szakirodalmi adatok alapján az antimikrobás hatásért nagymértékben felelős a rutin és a kvercetin. A két anyag antimikrobás hatását vizsgálva megállapítottam, hogy a rutinnál nem mérhető gátló hatás, a kvercetinnél pedig csak a 80 °C-os extraktumoknál, mert a 100 °C-os hőkezelés -méréseim szerint- valószínűleg inaktiválja a vegyületet.

Következtetések, javaslatok

Munkám célja a nagy csalán (*Urtica dioica* L.) leveléből és gyökeréből különböző extrakciós módszerek-, oldószerek-, és paraméterek beállítása mellett egy olyan termék előállítása volt, amely kedvező antimikrobás és redukáló hatásának köszönhetően tinktúra illetve por alakban alkalmas lehet élelmiszerbiztonsági szempontból is funkcionális élelmiszerként, élelmiszer-összetevőként, illetve a különböző technológiai/feldolgozási eljárásokon keresztül esett termékek természetes adalékanyagaként, ugyanakkor az élelmiszerfeldolgozás során a mikrobiológiai védelemben is fontos szerepet játszhat.

Eredményeim alapján elmondható, hogy mind csalánkivonat készítése szempontjából, mind környezetszennyezés szempontjából a víz a legalkalmasabb oldószer, melyből az értékes bioaktív hatóanyagokat/polifenolos vegyületeket legalább 3 órán keresztül történő és legalább 60 °C-os extrakcióval célszerű kinyerni, ugyanis ezen vegyületek kinyerésének kedvez a magasabb hőmérséklet. Tehát ha nem egy vitamindús frissen készített ital előállítása a célunk, hanem szeretnénk a szervezet számára káros szabadgyököket megkötni egy méregtelenítő kúrával, akkor a drogból az előbb leírt módon kell kivonatot készítenünk.

Kísérleteim alapján az is elmondható, hogy a növényt a vegetációs időszak kezdetén (áprilisban) érdemes gyűjteni, majd szárítani.

Megállapítottam, hogy a 3 órán keresztül és magasabb hőmérsékleten (80 °C-on és 100 °C-on) végzett vizes extrakciók az antimikrobás hatású vegyületek szempontjából is kedvezőek, hiszen az antimikrobás hatás összefüggésbe hozható a polifenolok jelenlétével.

Sikerült egy olyan módszert kidolgoznom, hogy csalánlevélből egy háztartási vízforráló segítségével bárki készíthet magának otthonában méregtelenítő/szabadgyök-megköttő hatású italt.

De a csalánkivonatokat be is lehet párolni, és szilárd por alakjában a technológiai eljárásainak részeként élelmiszerek adalékanyagaként vagy tartósító hatást kiváltó csomagolóanyagokban, felhasználni. A mediterrán országoknál már bevált módszerek szerint ajánlom még a növény friss levelének salátaként történő fogyasztását, vagy szárított formában fűszerkeverékekben történő felhasználását.

Kísérleteim során vizsgáltam a rutin és a kvercetin antimikrobás hatását is, illetve ugyanezen komponensek jelenlétét extraktumaimban. Megállapítottam, hogy a kvercetin hozzájárul az oldatok gátló hatásához, de a rutinnak nincsen hatása a vizsgált mikroorganizmusokra. Felmerül tehát a kérdés, hogy pontosan mely polifenolos vegyület vagy vegyületek, és milyen összetételben felelősek a növény adott fenológiai fázisában az antimikrobás hatásért. Ugyancsak érdekes lehetne megállapítani, hogyan változik az egyes komponensek mennyisége a növény teljes fenológiai fázisa alatt.

Kapcsolódó publikációk

IF-os folyóiratcikkek

1. Kornélia Kőszegi, Gyula Vatai, Erika Békássy-Molnár: Comparison the Soxhlet and supercritical fluid extraction of nettle root (*Urtica dioica* L.). *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, 59(3), 168-173 (2015). IF: 0,84
2. Arijit Nath, Máté András Molnár, Attila Csighy, Kornélia Kőszegi, Ildikó Galambos, Klára Pásztorné Huszár, András Koris and Gyula Vatai: Biological activities of lactose-based prebiotics and symbiosis with probiotics on controlling osteoporosis, blood-lipid and glucose levels. Review. *Medicina* 54(6), 98 (2018). DOI: 10.3390/medicina5406009 IF: 1,467
3. Kornélia Kőszegi, Erika Békássy-Molnár, Noémi Koczka, Tímea Kerner, Éva Stefanovits-Bányai: Changes in Total Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Stinging Nettle (*Urtica dioica* L.) from Spring to Autumn. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering* DOI: 10.3311/PPch.14338 (2019). IF: 1,248

NEM IF-os folyóiratcikk, idegen nyelv

Kornelia Koszegi, Joseph Michael Kocsis, Gyula Vatai, Erika Bekassy-Molnar: Antimicrobial effects of the Stinging Nettle (*Urtica Dioica* L.). Review *Analecta Technica Szegedinensia*, 11(2), 10-15 (2017)

Magyar nyelvű könyv részlet

Békássyné Dr.Molnár Erika, Dr.Friedrich László, Galicz István, Dr.Hitka Géza, Kőszegi Lászlóné, Nágl Péter, Pásztorné Dr.Huszár Klára, Stégerné Dr.Máté Mónika, Török Zita
Módszertani Füzet VII. Szemelvények az élelmiszeripari technológiák oktatásának módszertanáról Budapesti Corvinus Egyetem (2015) 2,1 ív

Magyar nyelvű konferencia kiadvány (teljes)

Terék O., Papp I., Honfi P., Jámborné Benczúr E., Kőszegi L.né., Máthé Á.: Előzetes eredmények a 'Bacardi' krizantémfajta fotoszintézissel kapcsolatos posztharveszt folyamatairól különböző tartósító oldatok esetén., „Hagyomány és haladás a növénynevelésben“ XV. Növénynevelési Tudományos Napok 2009. március 17. MTA Agártudományok Osztályának Növénynevelési Bizottsága. Konferenciakiadvány 482-486 (2009)

Magyar nyelvű konferencia kiadvány (összefoglaló)

1. Kőszegi Lászlóné, Fogarassy Eszter, Békássyné Molnár Erika, Vatai Gyula: A must sűrítése során alkalmazott membránszűrési eljárások optimális megvalósításának tervezése „Műszaki Kémiai Napok'2011. Veszprém.” 2011. április 27-29. Poszter. Konferenciakiadvány 264
2. Kőszegi K., Galambos I., Békassy-Molnár E., Vatai Gy.: Komplex eljárás ivóvíz előállítására nagy arzén- és huminsav-tartalmú kútvízből (Kísérleti terv, első eredmények). „Műszaki Kémiai Napok'2012. Veszprém.” 2012. április 24-26. Konferencia előadás. Konferenciakiadvány 22.

Nemzetközi konferencia kiadvány (teljes)

1. K. Koszegi, G. Gurin, I. Galambos, Gy. Vatai, E. Bekassy-Molnar: Industrial application of GEH package for coexistent removal of arsenic and humic acid. PERMEA 15-19 September 2013 Warsaw, Poland. Angol nyelvű konferencia előadás. Konferenciakiadvány E6-E14
2. Kőszegi K., Simándi B., Vatai Gy., Békassy-Molnár E. Extraction of the active substances of the stinging nettle (*Urtica Dioica* L.) by Soxhlet- and supercritical extraction. Élelmiszertudományi Konferencia 2013. november 7-8. Budapest, Magyarország, BCE 1118 Budapest, Villányi út 35-43. magyar nyelvű konferencia előadás Konferenciakiadvány 84-87
3. Koszegi K., Simandi B., Vatai Gy., Bekassy-Molnar E.: Comparison the Soxhlet- and supercritical fluid extraction of nettle root (*Urtica dioica* L.) „Műszaki Kémiai Napok” 2014. Veszprém 2014. május 14-16. Angol nyelvű konferencia előadás. Konferenciakiadvány 82-88
4. Koszegi Kornelia, Kocsis Joseph Michael, Vatai Gyula, Bekassy-Molnar Erika: Antimicrobial effects of the Stinging nettle (*Urtica dioica* L.). Proceedings of 1st International Conference on Biosystems and Food Engineering, Budapest (2016), ISBN 978-963-269-598-3, PDF E125. 7

Nemzetközi konferencia kiadvány (összefoglaló)

1. Fogarassy E., Koszegi K., Bekassy S., Bekassy Molnar E., Vatai Gy.: Optimization of grape juice concentration by using multistep membrane technique. Training Nanostructured materials and membranes for Energy. Lilleström, Norvégia (2009). Poster (angol nyelven).
2. Koszegi K., Simandi B., Vatai Gy., Bekassy-Molnar E.: Examining the effectiveness of different extractions using nettle leaf. The Scientific board of the 8th International Congress of Food Technologists, Biotechnologists and Nutritionists 21 to 24 October 2014 in Opatija, Croatia. Poster (angol nyelven).
3. Kőszegi K., Békassy-Molnár E., Stefanovits-Bányai É., Szabó P., Végvári Gy., Maráz A.: Chemical composition and antimicrobial effect of aqueous and ethanolic extracts of stinging nettle (*Urtica dioica* L.). 2nd International Conference on Biosystems and Food Engineering Budapest, 2018. június 8. Angol nyelvű konferencia kiadvány

4. Kornélia Kőszegi, Éva Stefanovits-Bányai, Tímea Kerner, Erika Békássy-Molnár: Stinging nettle extract health benefits -A comparative analysis Young Researchers'International Conference on Chemistry and Chemical Engineering (YRICCCE II) Budapest, 2018. május 3-5. Angol nyelvű konferencia kiadvány 66
5. Kőszegi K, Végvári Gy, Békássy-Molnár E, Maráz A.: Characterization of phenolic compounds of stinging nettle (*Urtica dioica* L.) extracts by HPLC analysis and determination of their antimicrobial activity. 3rd International Conference on Biosystems and Food Engineering, Budapest on 4th of December, 2019. Angol nyelvű konferencia kiadvány. PDF E231, 1