

Soproni Egyetem

Doktori értekezés tézisei

**Antioxidáns paraméterek vizsgálata  
Magyarországon előforduló erdei fafajok  
levél- és kéreg szöveteiben**

**Tálos-Nebehaj Esztella**

**Sopron  
2017**

**Doktori iskola:** Kitaibel Pál Környezettudományi Doktori Iskola  
**Vezető:** Prof. Dr. Németh Róbert  
**Program:** Biokörnyezettudomány (K1)  
**Vezető:** Prof. Dr. Albert Levente  
**Témavezető:** Dr. habil Hofmann Tamás

## Bevezetés

Az utóbbi évtizedekben jelentősen megnövekedett a polifenolos jellegű, antioxidáns hatású vegyületekkel kapcsolatos kutatások száma. Főleg e vegyületek betegségekre gyakorolt pozitív hatásai kerültek előtérbe, hiszen napjainkban egyre inkább megfigyelhető a civilizációs betegségek rohamos elterjedése. Bár a polifenolok jelentős antioxidáns hatással rendelkeznek, mégsem csak ez a vegyületsorozat felelős a növényekben megtalálható vegyületek antioxidáns tulajdonságáért, hiszen a növényi antioxidánsok nagyon sokfélék lehetnek. Továbbá fontos az is, hogy a növényekben az antioxidáns hatással rendelkező vegyületek másfajta feladatokat is elláthatnak: a karotinoidok pigmentekként vannak jelen, a terpének allelopátiás szerekként viselkednek. A kutatások bizonyítják, hogy a növényi polifenolok szintézise és akkumulációja általában a biotikus- és abiotikus stresszre és környezeti hatásokra adott válaszreakcióval is összefüggésben van egy adott növényfaj esetében. Továbbá nemcsak antioxidáns, hanem vírusellenes, antimikrobiális hatásúak is lehetnek ezek a vegyületek, és az emberi szervezetben is fontos hatásúak ennek megfelelően. A növényi szövetek, élelmiszerek és egyéb biológiai mátrixok esetében az antioxidáns tulajdonságok megbízható, reprodukálható és számszerű meghatározása fontos feladat. Ennek ellenére a hazai erdei fajok szöveteiben lévő ilyen jellegű vegyületekről csak kevés eredményt olvashatunk. Erdei fák esetében az antioxidáns tulajdonságok vizsgálata elsősorban védelmi reakciók vizsgálata miatt került előtérbe (gomba- vagy baktériumfertőzés, klimatikus adaptáció, stb.), valamint az egyes fa melléktermékekből (ággöcs, kéreg, stb.) kivonható és potenciálisan hasznosítható anyagok kapcsán. Noha a kutatási téma több szempontból is jelentős, hasonló jellegű átfogó vizsgálatok Magyarországon előforduló erdőalkotó fajok kéreg- és levélszöveire még nem történtek.

## Célkitűzések

A kutatás elsődleges célja a Magyarországon előforduló legfontosabb erdei fajok leveleiből és kérgéből készült kivonatok antioxidáns tulajdonságainak összehasonlító vizsgálata, valamint az antioxidáns hatásért felelős polifenolok minőségi és mennyiségi meghatározása volt. A szerző fontosnak találta meghatározni, hogy mely kivonatokban, milyen körülmények között mérhetőek a legnagyobb értékek, melynek segítségével a későbbiekben a kivonatok ipari alkalmazását is fontolóra lehet venni.

1. Első lépésként a mintavételi-, minta-előkészítési- és extrakciós eljárások összehasonlítása volt a cél, azok optimalizálásának érdekében.
2. Cél volt a kiválasztott erdei fajokból vett levélminták antioxidáns paramétereinek összehasonlító vizsgálata a vegetációs időszak különböző pontjain, hogy megállapításra kerüljön, hogy mikor rendelkeznek a legmagasabb antioxidáns kapacitással a levelek. A fajok kiválasztása úgy történt meg, hogy legyen közöttük olyan, aminek antioxidáns kapacitására találni irodalmi példát, és olyan is, amit még nem vizsgáltak ebből a szempontból.
3. Cél volt továbbá a magyarországi, erdészeti és faipari szempontból is jelentős erdei fajok külső és belső kérgének antioxidáns kapacitás értékeinek és polifenol tartalmainak összehasonlító vizsgálata.
4. Cél volt kiválasztott fajok és szövetek esetében a polifenolos antioxidánsok elválasztása valamint tömegspektrometriás minőségi és mennyiségi vizsgálata HPLC-PDA-MS/MS technika segítségével.

## Anyag és módszer

### 1. Mintavétel és minta-előkészítés

A *levélminták gyűjtése* a Soproni Egyetem Élő Növénygyűjteménye területén történt. A 2013. októberi mintavétel esetében 10 fafajról fajonként 30 árnyék és 30 fénylevél, a 2014. májustól szeptemberig tartó időszakban 12 fafajról (köztük kettő túlevelű) 15 árnyék- és 15 fénylevél begyűjtésére került sor. A túlevelű fák esetében 3 ágvégnyi levelet vizsgált a szerző, ezek mennyiségét 300 db-ra becsülte. A begyűjtött fény- és árnyékleveleket homogenizálta és egy reprezentatív mintának tekintette. A *napon belüli változás* vizsgálata során (2014. július 7-én) a csertölgy esetében külön gyűjtötte a fényleveleket, árnyékleveleket és félárnyékos leveleket is. A mintavétel körülményeinek standardizálásával igyekezett a levelek antioxidáns tulajdonságait befolyásoló külső paraméterek hatásait, valamint a lombkorona inhomogenitásából adódó eltéréseket csökkenteni.

A *kéregminták* a Soproni Tanulmányi Erdőgazdaság Zrt. Hegyvidéki Erdészetének állományából származtak. Mindegyik fafaj esetében egy reprezentatív törzsről történt a mintavétel, kivéve a bükköt, ahol összesen 3 törzs mintavételezésére került sor. A gyertyán esetében az egész kéregből, a bükk esetében a háncsból, a többi fafajnál a háncsból és a héjkéregből is történt mintavétel.

A levél- és a kéregminták esetében is fontos része volt a minta-előkészítésnek a mikrohullámú előkezelés alkalmazása a polifenolokat oxidáló enzimek inaktiválása céljából.

Az extrakciós oldószer és technika optimalása során háromféle oldószer (metanol:víz 80:20 v/v%, etanol víz 80:20 v/v%, víz) és háromféle módszer (ultrahangos-, mikrohullámú, mágneses kevertetéses) alkalmazására került sor.

### 2. Vizsgálati módszerek

Az extraktumokból az antioxidáns kapacitások (DPPH-, FRAP-, ABTS-módszerrel) és a fenolos vegyületek (összes polifenol-, összes flavonoid-, összes flavan-3-ol-tartalom) mennyiségei spektrofotometriás módszerekkel kerültek meghatározásra. Egy-egy kiválasztott szövet és fafaj (közönséges gyertyán levélextraktum és bükk kéregextraktum) esetében a polifenolos antioxidánsok elválasztására és azonosítására HPLC-PDA-MS/MS-technikával került sor. A bükk kéreg esetében a polifenolok relatív mennyiségének meghatározása is megtörtént a HPLC-PDA-MS/MS-mérések során MRM-átmeneteket felhasználva.

### 3. Statisztikai kiértékelések

Az adatok kiértékelése Microsoft Office Excel 2010 (Microsoft Corp., Redmond, USA), valamint a STATISTICA 11 (StatSoft, Tulsa, USA) programok segítségével történt.

## Eredmények és értékelésük

### 1. Levélvizsgálatok

#### *a) A mikrohullámú kezelés hatása*

Az első levélvizsgálatok során párhuzamos minta-előkészítés alkalmazására került sor, hogy a szerző megtudja, milyen hatása van az antioxidáns-tartalomra annak, ha a polifenolokat oxidáló enzimek inaktiválása megtörténik. A levelekből az összes polifenol-tartalmakat, és az antioxidáns kapacitásokat (DPPH- és FRAP-módszerrel) határozta meg.

Bükk levél esetében a mikrohullámmal kezelt és nem kezelt minták kivonatainak polifenol profilját is meghatározta HPLC-PDA-MS/MS eljárással annak ellenőrzésére, hogy kimutathatók-e degradációs termékek. Megállapította, hogy a kromatogramok alapján a polifenolos vegyületek mennyisége magasabb a kezelt mintákban.

Mivel a legtöbb vizsgált fafaj esetében is a mikrohullámmal kezelt levelek magasabb polifenol-tartalmat és jobb antioxidáns kapacitást mutattak (illetve nem mutattak rosszabbat a kezelt levelek a nem kezelt leveleknél, egyes fajoknál, pl.: bükk, keleti gyertyán, korai juhar), egyértelmű a mikrohullámú enzim-inaktiválás kedvező hatása a vizsgált erdei fafajok levél antioxidánsainak hatékony megőrzésére. Ezért a további levélvizsgálatok esetében már csak a mikrohullámmal inaktivált levelekből készített kivonatokat vizsgáltam.

#### *b) Extrakciós oldószer optimalása*

A vizsgálat célja az volt, hogy a szerző megtalálja azt az ideális oldószerkeletet, amelynek segítségével a lombhullató és örökzöld fák levélmintáiból a legtöbb antioxidáns hatású vegyület kinyerhető, figyelembe véve a gazdaságossági szempontokat és az extraktumok további analíziseit is. 12 fafaj esetében (2014. májusi mintavétel) minden növényi mintából 3-féle kivonatot készítése történt meg (metanol:víz 80:20 v/v%, etanol víz 80:20 v/v%, és víz segítségével) ultrahangos extrakció alkalmazásával. Az eredmények alapján a vizsgált szerves oldószer tartalmú elegyek sokkal hatékonyabbak

voltak a bioaktív vegyületek kinyerésére, és a levélkivonatok elkészítésére a legalkalmasabb oldószerkelegynek a metanol:víz 80:20 v/v% elegy bizonyult.

*c) Mintavételi időpont optimalizálása*

A csertölgly 2014. július 7.-i mintavétele esetében egy nap alatt több időpontban és különböző benapozottságú levelekből történt mintavétel. Az eredmények azt mutatják, hogy a különböző vizsgált levéltípusok tekintetében, egyedül az összes flavonoid és flavan-3-ol tartalom az, amely kimutatható eltérést jelent az egyes levéltípusok között. Ezek az eredmények természetesen csak a csertölglyre vonatkoznak, más fafajok levelei esetében egyéb hatások is előfordulhatnak. Az eredmények alapján a további vizsgálatokban napos és árnyékos levelek egyaránt begyűjtésre kerültek egy mintavétel alkalmával és ezekből származott egy homogén „átlagminta”. A mintavétel ezek alapján délelőtt 8 és 11 óra között történt. Ezzel a mintavétel standardizálása megtörtént, a napon belüli ciklusokból adódó esetleges módszeres hiba kiküszöbölésre került.

*d) Levelek antioxidáns hatású vegyületeinek szezonális változása*

Ebben a mérési sorozatban 12 Magyarországon elterjedt fafaj leveleiből készült metanolos kivonat antioxidáns kapacitásának és fenolos vegyületeinek vizsgálata történt meg a 2014. májustól szeptemberig tartó időszakban. Az ABTS-mérés eredményeire jellemző, hogy a legmagasabb értékek májusban és júniusban voltak észlelhetők a fajok legnagyobb részénél. A FRAP esetében más a tendencia, a legmagasabb értékek augusztusban és szeptemberben voltak jellemzők, viszont mindkét módszer esetében a legjobb értékekkel a közönséges gyertyán, a szelídgesztenye, a molyhos tölgy és a csertölgly rendelkezett. A DPPH esetében jelentős antioxidáns kapacitás növekedést csak a nyár esetében lehet megállapítani. A többi fafaj esetében nincs egyértelmű tendencia a hónapok között.

Összességében minden módszer esetében más tendencia lelhető fel a vegetációs időszak folyamán, ami a módszerek eltérő szelektivitásával magyarázható. A különböző módszerekkel kapott eredmények együttes kiértékelésével kapható egy adott kivonat antioxidáns „erejéről” információ. Ez egy a szerző által felállított pontrendszer segítségével valósítható meg felhasználva a DPPH, FRAP és ABTS antioxidáns kapacitás meghatározás eredményeit. Egy adott módszeren belül az eredményeket [0-1] tartományra normalizálta, melynek során 0 pontot kapott az a fafaj, amelyik egy mérési paraméter esetében a legkisebb antioxidáns kapacitást, és 1-et az, amelyik a legnagyobb értéket mutatta. A DPPH esetében fordított

számozást alkalmazására került sor, mert az alacsony IC<sub>50</sub>-érték magas antioxidáns kapacitást jelent. Végül a különböző antioxidáns kapacitások normalizált értékeinek összegzése történt meg. Összességében a vizsgált fajok közül a legnagyobb összegzett antioxidáns kapacitással a közönséges gyertyán, a szelídgesztenye és a csertölggy rendelkezik. A legtöbb faj esetében az augusztusi/szeptemberi minták rendelkeznek a legmagasabb összegzett antioxidáns kapacitással. Ez alól kivétel az erdefenyő (június), a feketefenyő (július) és a csertölggy (május).

A fenolos vegyületek tendenciájára jellemző, hogy az összes polifenol-tartalom esetén tavaszról ősze történő növekedés tapasztalható, míg a flavonoid-értékek és az összes flavan-3-ol-tartalom esetében változatos szezonális tendenciák figyelhetők meg fajtól függően. A fenolos vegyületek szezonális változását összehasonlítva az antioxidáns kapacitás értékekkel megállapítható, hogy a totálfenol-tartalom is ugyanazoknál a fajoknál, vagyis a közönséges gyertyánnál, a szelídgesztenyénél, a molyhos tölgynél és a csertölggnél volt a legnagyobb. Tehát e fajok esetében az antioxidáns hatásért főleg a polifenolos vegyületek tehetők felelőssé.

#### *e) Közönséges gyertyán levél polifenoljainak HPLC-PDA-MS/MS elválasztása és azonosítása*

A kiválasztott fajok közül a közönséges gyertyán mutatta a legnagyobb antioxidáns kapacitás értékeket. Ezért az augusztusi levélkivonata esetében meghatározásra került, hogy milyen vegyületek tehetők az antioxidáns hatásért felelőssé. Ennek során a HPLC-PDA-MS/MS vizsgálat segítségével összességében 171 vegyület leírására került sor, köztük fenolsavak, ellagitanninok, gallotanninok, flavonoidok, katechinek, procianidinek, azonban számos vegyület ismeretlen maradt. A leggyakrabban előforduló vegyületek a klorogénsav, ellagsav, ellagitanninok, miricetin-, luteolin-, kvercetin- és apigenin-glikozidok voltak, és ezek a vegyületek tehetők a kiemelkedő antioxidáns tulajdonságokért is felelőssé. A nagyszámú polifenolos vegyület és a jelentős antioxidáns kapacitás alapján látható, hogy a közönséges gyertyán levelei egy ígéretes, megújuló forrást jelentenek az antioxidáns hatású extraktanyagok kinyerésére, amelyek a jövőben akár potenciálisan hasznosítható alapanyagok lehetnek.

## **2. Kéregvizsgálatok**

### *a) A mikrohullámú kezelés hatása*

A mikrohullámú kezelés hatásának vizsgálata az *akác*, a *fehér nyár*, a *kocsánytalan tölgy* héjkérge és hánca, valamint a *bükk*



hánca esetében történt meg az elkészült extraktumok összes polifenol-tartalma, és antioxidáns kapacitása (DPPH-, FRAP-, és ABTS-módszerrel) alapján. Az eredmények alapján a mikrohullámú előkezelés hatására vagy nincs szignifikáns különbség a kezelt és nem kezelt kéregminták polifenol-tartalma és antioxidáns kapacitása között, vagy a kezelés hatására jelentősen csökkennek ezek az értékek. A fajok között kivételnek számít a bükk hánca, ahol minden esetben kismértékű pozitív, polifenol-tartalmat és antioxidáns kapacitást növelő hatása volt az előkezelésnek. Az ABTS értékeknél is pozitív hatás mutatható ki a tölgy héjkerge esetében. Ebből a mérési sorozatból azt állapítottam meg, hogy a kéreg esetében ez az előkezelés erősen fajfüggő. Egyes fajoknál nem okoz szignifikáns változást a mért paraméterekben, más fajoknál csökkenti az antioxidáns hatású anyagok mennyiségét. Az utóbbi esetben ezzel a módszerrel valószínűleg nem lehetséges és nem is szükséges a polifenolokat oxidáló enzimeket inaktíválni, sőt a túlzott mikrohullámú kezelés hatására az antioxidáns tulajdonságokért felelős vegyületek is károsodnak, így már nem járulnak hozzá a szövet antioxidáns hatásához. Ezen ismeretek alapján a továbbiakban (a bükk kivételével) nem alkalmaztam mikrohullámú kezelést a kéregminták előkészítésénél.

#### *b) Extrakciós módszer és oldószer optimalálása*

Az extrakciós módszer és oldószer optimalálása a bükk kéreg esetében történt meg. Három különböző módszer (ultrahangos extrakció, mágneses kevertetés, mikrohullámú extrakció) és háromféle oldószer (metanol:víz 80:20 v/v%, etanol:víz 80:20 v/v% és víz) összehasonlítása történt meg különböző hőmérséklet és időbeállítások mellett. A legoptimálisabb módszer és oldószer az antioxidáns kapacitás értékek alapján került kiválasztásra. A totálfenol mérésre kapott eredmények alapján az etanos oldószerrel volt a legjobban megvalósítható a polifenolok kivonása szobahőmérsékleten. A módszerek közül a mikrohullámú extrakció bizonyult a leghatásosabbnak, ezt követte az ultrahangos és mágneses kevertetés módszere. Az antioxidáns kapacitások értékei alapján, szobahőmérsékleten az etanos oldószerrel készült kivonatok gazdagabbak voltak antioxidáns vegyületekben, mint az ugyanolyan körülmények között készült metanos kivonatok. Azonban megnövekedett nyomás és hőmérséklet paraméterek mellett a víz is képes olyan hatékony kivonószerré válni, mint az alkoholos elegyek. Ezáltal a jövőben lehetővé válhat olyan környezetbarát extrakciós technológia alkalmazása, amelynek segítségével a bükk, vagy egyéb más fafajok kérgéből és egyéb szöveteiből az antioxidáns jellegű vegyületek kinyerhetők.

A mérési eredmények azt bizonyítják, hogy erdei fák kérgéből készített kivonat esetében nem elegendő egyféle módszert alkalmazni az antioxidáns paraméterek jellemzésére. Ezért nagyon fontos, hogy több módszert alkalmazzunk, és ezzel pontosabb képet kapjunk a növényi kivonatok valódi antioxidáns tulajdonságairól. Az eredmények alapján a DPPH-féle antioxidáns kapacitásért felelős vegyületek az ultrahangos módszerrel nyerhetők ki a leghatékonyabban, míg a FRAP-módszer esetében a mikrohullámú extrakció, az ABTS esetében pedig a kevertetés és szintén a mikrohullámú extrakció volt a leghatásosabb extrakciós módszer.

*c) Bükk kéreg polifenoljainak HPLC-PDA-MS/MS elválasztása és azonosítása*

A bükk kéreg polifenoljainak HPLC-MS/MS elválasztása és azonosítása a mikrohullámú extrakcióval 120°C-on és 20 perc időtartam alatt etanolos oldószerrel készült kivonatból valósult meg. A bükk kéregben található polifenolokról az irodalomban található adat, hiszen már történtek korábban ezirányú vizsgálatok, de ilyen jellegű, részletes és nagyfelbontású kísérletet még nem végeztek el. Összesen 37 komponens, köztük (+)-katechin, (-)-epikatechin, kvercetin-*O*-hexozid, taxifolin-*O*-hexozidok (3), taxifolin-*O*-pentozidok (4), B-típusú (6) és C-típusú (6) procianidinek kerültek azonosításra.

Azokból az extraktumokból, amelyek a legtöbb totálfenol-tartalmat mutatták, az azonosított vegyületek mennyiségi meghatározására is sor került, mely MRM átmenetek segítségével történt meg. A legnagyobb mennyiségű (+)-katechin és (-)-epikatechin a 120 °C-on, mikrohullámmal segített extrakcióval készült kivonatokban volt mérhető. A procianidinek kinyerésére az ultrahangos módszer és az etanolos oldószer bizonyult a leghatékonyabbnak. A 20 percnél tovább tartó extrakció esetében az alkoholos elegyeknél a procianidinek mennyiségében csökkenés következett be. A katechinekhez hasonlóan itt is megfigyelhető, hogy a vizes kivonatokban az időtartam növelésével a procianidinek lebomlanak, és ez hozzájárul a totálfenol-tartalom csökkenéséhez is. A taxifolin-glikozidok extrakciójára a mikrohullámú extrakció bizonyult a legeredményesebb technikának. Összességében az extrakciós módszer, az extrakciós körülmények, és az oldószeres alkalmas megválasztásával különböző vegyületszortba tartozó komponensek vonhatók ki a bükk kérgéből. A víz meglepően kiváló eredményeket ért el a mikrohullámmal segített extrakció esetében, így a bükk kéregben lévő polifenolok extrakciójára a túlnyomáson és magas hőmérsékleten alkalmazott víz új, környezetbarát technológia kifejlesztését teszi lehetővé.

#### d) *Különböző fakérgék antioxidáns paramétereinek jellemzése*

A kéregre vonatkozó antioxidáns paraméterek jellemzése 7 fajra terjedt ki. A vizsgálatok során az antioxidáns kapacitások (DPPH-, FRAP- és ABTS-módszerrel), és a fenolos vegyületek mennyiségének meghatározására került sor. Az eredmények alapján a legjobb antioxidáns kapacitásokkal a szelídgesztenye (kéreg, DPPH: 2,80 µg/ml), a vörösfenyő (kéreg, DPPH: 5,84 µg/ml) és a fekete cseresznye (kéreg, DPPH: 12,0 µg/ml) rendelkezik. Leggyengébben a fekete nyár (kéreg, DPPH: 30,2 µg/ml) teljesített. A kéreg esetében a legjobb totálfenol-tartalommal a vörösfenyő, a szelídgesztenye és a fekete cseresznye rendelkezett rendre 121; 89,0; 70,0 mg Q/g sz.a. értékekkel, míg a háncs esetében a cseresznyét követte a vörösfenyő és a nyár rendre 139; 107 és 76,6 mg Q/g sz.a. eredményekkel. A legtöbb flavonoid a héjkéreg esetében a szelídgesztenyénél, a háncs esetében a cseresznyénél volt mérhető, míg az összes flavan-3-ol-tartalom a kéregnél a vörösfenyő, míg a háncsnál a fekete cseresznye esetében volt jelen a legnagyobb mennyiségben. Ezen fajok kérge ígéretes nyersanyag lehet a jövőben gyakorlati felhasználásra.

A kéreg minták esetében is elvégeztem az összegzett antioxidáns kapacitások kiszámítását az összes vizsgált faj (11) esetében, ami a levélmintákhoz hasonlóan egy pontrendszer segítségével történt meg külön háncsra és a héjkéregre. A kiértékelés alapján megállapítottam, hogy a vizsgált fajok háncsa közül a fekete cseresznye, a szelídgesztenye és a vörösfenyő, a héjkéregből készült extraktumok közül pedig a szelídgesztenye és a vörösfenyő mutatta a legjobb összegzett antioxidáns képességet.

### **Új tudományos eredmények**

1) *Elsőként végeztem el a Magyarországon előforduló 12 erdei fafaj (közönséges bükk, közönséges gyertyán, molyhos tölgy, nyár, fehér akác, korai juhar, csertölgy, szelídgesztenye, kocsányos tölgy, kocsánytalan tölgy, erdeifenyő, feketefenyő) leveleire kiterjedő összehasonlító vizsgálatot az antioxidáns paraméterek (DPPH, ABTS, FRAP) és a főbb polifenol csoportok (összes polifenol, összes flavonoid, összes flavan-3-ol) mennyiségének tekintetében. Megállapítottam, hogy a vizsgált erdei fajok levélmintáinál több módszerre van szükség az antioxidáns tulajdonságok komplex felméréséhez. A DPPH, ABTS és FRAP antioxidáns kapacitások szezonális változásainak adatait felhasználva egy adott antioxidáns*

kapacitást mérő módszeren belül az eredményeket [0-1] tartományra normalizáltam. 0 pontot kapott az a minta, amelyik egy mérési paraméter esetében a legkisebb antioxidáns kapacitást, és 1-et az, amelyik a legnagyobb értéket mutatta. A DPPH esetében fordított számozást alkalmaztam. Végül a különböző antioxidáns kapacitások normalizált értékeit mintánként összegeztem. *Megállapítottam, hogy a vizsgált fajok közül a legnagyobb összegzett antioxidáns kapacitással a gyertyán, a szelidgesztenye, a csertölgy és a molyhos tölgy rendelkezik. A legtöbb vizsgált faj esetében az augusztusi/szeptemberi minták rendelkeznek a legmagasabb összegzett antioxidáns kapacitással.*

2) *Elsőként írtam le és jellemeztem nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás és csatolt tandem tömegspektrometriás módszerekkel a közönséges gyertyán levelében előforduló polifenolos vegyületeket. Összesen 171 vegyületet választottam el, melyek közül 92 komponenst azonosítottam, köztük fenolos savakat és származékaikat, gallotanninokat és ellagitanninokat, catechineket, flavonoid-glikozidokat és az eukaglobulint. Ezenkívül meghatározott molekulaionnal és MS/MS fragmentációval rendelkező, mindezülig azonosítatlan szerkezetű és nevű vegyületeket is leírtam. A vegyületek listája alapját képezheti a gyertyán levélextraktum bioaktív komponenseinek további kutatásához.*

3) *Elsőként végeztem el a Magyarországon előforduló 11 erdei fajfaj (közönséges gyertyán, fekete cseresznye, szelidgesztenye, fekete nyár, közönséges nyír, vörösfenyő, erdeifenyő, közönséges bükk, fehér akác, kocsánytalan tölgy, fehér nyár) kérgére az antioxidáns kapacitások (FRAP, ABTS, DPPH) és a főbb polifenol csoportok (összes polifenol, összes flavonoid, összes flavan-3-ol) mennyiségének összehasonlító vizsgálatát. Megállapítottam, hogy a vizsgált erdei fajok kéregmintáinál több módszerre van szükség az antioxidáns tulajdonságok komplex felméréséhez. Antioxidáns kapacitást mérő módszerenként a különböző típusú minták (külön a háncs és a héjkéreg) eredményeit [0-1] tartományra normalizáltam. 0 pontot kapott az a minta, amelyik egy mérési paraméter esetében a legkisebb antioxidáns kapacitást, és 1-et az, amelyik a legnagyobb értéket mutatta. A DPPH esetében fordított számozást alkalmaztam. Végül a különböző antioxidáns kapacitások normalizált értékeit*

mintánként összegeztem. *A kiértékelés alapján megállapítottam, hogy a vizsgált fajok hánca közül a fekete cseresznye, a szelídgesztenye és a vörösfenyő, a héjkéregből készült extraktumok közül pedig a szelídgesztenye és a vörösfenyő mutatta a legjobb összegzett antioxidáns képességet.*

4) *Elsőként írtam le és jellemeztem nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás és csatolt tandem tömegspektrometriás módszerekkel a közönséges bükk hánca legfontosabb polifenoljait. Összesen 37 komponenst választottam el, ezekből azonosítottam a következő vegyületeket: (+)-katechin, (–)-epikatechin, a procianidinek közül 6 procianidin B dimer-, és 6 procianidin C trimer izomert, a taxifolin-glikozidok közül 4 taxifolin-*O*-pentozidot és 3 taxifolin-*O*-hexozidot, kvercetin-*O*-hexozidot, koniferil-alkohol-*O*-hexozid-*O*-pentozidot, 2 sziringsav-di-*O*-hexozidot, kumarinsav-*O*-dihexozidot és 2 koniferin izomert. Ezen kívül meghatározott molekulaionnal és MS/MS fragmentációval rendelkező, mindezidáig azonosítatlan szerkezetű és nevű vegyületeket is leírtam.*

## Saját publikációk a doktori értekezés témájában

### Referált folyóiratban megjelent szakkik

1. **Tálos-Nebhaj E.**, Hofmann T., Albert L.  
Seasonal changes of natural antioxidant content in the leaves of Hungarian forest trees  
*INDUSTRIAL CROPS AND PRODUCTS* **98**: pp. 53-59. (2017)
2. Hofmann T., **Nebhaj E.**, Albert L.  
Antioxidant properties and detailed polyphenol profiling of European hornbeam (*Carpinus betulus* L.) leaves by multiple antioxidant capacity assays and high-performance liquid chromatography/multistage electrospray mass spectrometry  
*INDUSTRIAL CROPS AND PRODUCTS* **87**: pp. 340-349. (2016)
3. Hofmann T., **Nebhaj E.**, Stefanovits-Bányai É., Albert L.  
Antioxidant capacity and total phenol content of beech (*Fagus sylvatica* L.) bark extracts  
*INDUSTRIAL CROPS AND PRODUCTS* **77**: pp. 375-381. (2015)
4. Hofmann Tamás, **Nebhaj Esztella**, Albert Levente  
The high-performance liquid chromatography/multistage electrospray mass spectrometric investigation and extraction optimization of beech (*Fagus sylvatica* L.) bark polyphenols  
*JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY A* **1393**: pp. 96-105. (2015)

### Konferencia összefoglaló

5. **Nebhaj Esztella**, Albert Levente, Hofmann Tamás  
Magyarországi fajok leveleinek antioxidáns tulajdonságai és ezek szezonális változása  
In: Bidló A., Facskó F. (szerk.)  
V. Kari Tudományos Konferencia - Nyugat-magyarországi Egyetem Erdőmérnöki Kar: a konferencia előadásainak és posztereinek kivonatai. 42 p. Konferencia helye, ideje: Sopron, Magyarország, 2015.10.21 Sopron: Nyugat-magyarországi Egyetem Kiadó, 2015. p. 38. (ISBN:978-963-334-237-4)
6. Németh László, **Nebhaj Esztella**, Albert Levente, Hofmann Tamás

Bükk (*Fagus sylvatica* L.) kéreg antioxidáns vegyületeinek hatékonyság-vizsgálata különböző matematikai módszerekkel

In: Bidló A., Facskó F. (szerk.)

V. Kari Tudományos Konferencia - Nyugat-magyarországi Egyetem Erdőmérnöki Kar: a konferencia előadásainak és posztereinek kivonatai. 42 p. Konferencia helye, ideje: Sopron, Magyarország, 2015.10.21 Sopron: Nyugat-magyarországi Egyetem Kiadó, 2015. p. 38. (ISBN:978-963-334-237-4)

7. Hofmann T., **Nebehaj E.**, Eső I., Fehér S., Albert L., Stefanovits-Bányai É.

Comparative analysis of antioxidant extractives in the bark tissues of selected wood species

In: Róbert Németh, Alfred Teischinger, Uwe Schmitt (szerk.)

Eco-efficient resource wood with special focus on hardwoods: IAWS PLENARY MEETING 2014 - SOPRON (HUNGARY) –VIENNA (AUSTRIA). 115 p. Konferencia helye, ideje: Bécs, Ausztria, 2014.09.15-2014.09.18. Sopron: Nyugat-magyarországi Egyetem (NYME), 2014. p. 15. (ISBN:978-963-334-191-9)

8. **Nebehaj E.**, Stefanovitsné Bányai É., Hofmann T.

Falevelek totálfenol tartalmának és antioxidáns értékének meghatározása különböző fafajok esetében

In: Bidló András, Szabó Zília (szerk.) Nyugat-magyarországi Egyetem, Erdőmérnöki Kar, Kari Tudományos Konferencia: A konferencia előadásainak és posztereinek kivonata. Konferencia helye, ideje: Sopron, Magyarország, 2013.12.10 Sopron: Nyugat-magyarországi Egyetem Erdőmérnöki Kar, p. 45.

### **Konferencia előadás és poszter**

9. **Nebehaj Esztella**, Hofmann Tamás

The leaf polyphenols of forest trees: optimization of the extraction solvent, seasonal changes, and structural elucidation by HPLC-ESI-MS<sup>n</sup> In: HPLC 2015, 42nd International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques. 1 p. Konferencia helye, ideje: Genf, Svájc, 2015.06.21-2015.06.25. Geneva, Paper NE-HT. 1 p.

10. **Nebehaj E.**, Stefanovits-Bányai É., Hofmann T.

Antioxidáns vegyületek kinyerése bükk (*Fagus sylvatica* L.) kéregből

Tavaszi Sél Konferencia, Debrecen, 2014. március 21-23. (2014)

11. Nebhaj E., Hofmann T.  
HPLC-MS/MS investigation and extraction optimization of beech  
(*Fagus sylvatica* L.) bark polyphenols  
ISC 2014, 30th International Symposium on Chromatography, 2014.  
September 14-18, Salzburg, Austria (2014)