



Élelmiszertudományi Kar

**ÉLELMI NÖVÉNYEK
POLIFENOLKÉSZLETÉNEK VIZSGÁLATA
TÖMEGSPEKTROMETRIÁS MÓDSZEREKKEL**

SZILVÁSSY BLANKA

Doktori (Ph.D.) értekezése

Készült:
Budapesti Corvinus Egyetem
Alkalmazott Kémia Tanszék

Budapest, 2014

A doktori iskola

megnevezése: Élelmiszertudományi Doktori Iskola

tudományága: Élelmiszertudományok

vezetője: **Dr. Felföldi József**
Egyetemi tanár
Budapesti Corvinus Egyetem,
Élelmiszertudományi Kar,
Fizika-Automatika Tanszék

Témavezető: **Dr. Abrankó László**
-2014. január 31-ig
Egyetemi docens
Budapesti Corvinus Egyetem,
Élelmiszertudományi Kar,
Alkalmazott Kémia Tanszék

2014. február 1-től
Tudományos főmunkatárs
MS Proteomika Kutatócsoport
Szerves Kémiai Intézet
Természettudományi Kutatóközpont
Magyar Tudományos Akadémia

A doktori iskola- és a témavezető jóváhagyó aláírása:

A jelölt a Budapesti Corvinus 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.

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

BEVEZETÉS

A polifenolok egészségre gyakorolt jótékony hatását már számos kísérlet igazolta. Az epidemiológiai vizsgálatok meggyőző bizonyítékokkal támasztják alá, hogy a magas flavonoid bevitel számos, az egészségi állapotot pozitívan befolyásoló hatással bír, például csökkenti a szívkoszorú ér betegségek-, az asztma és krónikus tüdőbetegség kialakulását, antikarcinogén hatású, továbbá csökkenti a szélütés kockázatát. Ugyanakkor az a kérdés, hogy pontosan mi is okozza e vegyületek pozitív tulajdonságát, még számos esetben nem tisztázott. Korábban e tekintetben szinte kizárólag a polifenolok antioxidáns hatásának tulajdonítottak jelentőséget. Mára azonban egyre inkább az a szemlélet kezd uralkodóvá válni, mely megkérdőjelezi, hogy a polifenolok kémiai tesztekben mutatott antioxidáns sajátságai párhuzamba állíthatók az *in vivo* körülmények között megmutatkozó biológiai hatások mögött meghúzódó folyamatokkal. Napjainkban egyre több kutatás célja tehát, hogy megismerje a polifenolok valódi hatásmechanizmusait. A szervezetre gyakorolt biológiai hatásokat a metabolizmus és a hatásmechanizmusok megfigyelése céljából aglikonokon tesztelték először. Mára kiderült, hogy ez sem helyes megközelítés, hiszen a polifenolok az emberi szervezetbe a táplálkozás során elfogyasztott növényekkel jutnak be, a növényekben pedig ezek nem önmagukban (aglikonok formájában), hanem cukrokkal, szerves savakkal alkotott konjugátumok formájában vannak jelen. A nagyszámú (közel tízezer) lehetséges konjugátum kombináció miatt, sok esetben nem is ismerjük pontosan milyen polifenol-konjugátumok fordulnak elő a táplálékként szolgáló növényekben. Ezért a hatásmechanizmus felderítésére irányuló kutatások előfeltétele, hogy megismerjük a szervezetbe bekerülő polifenolok pontos kémiai felépítését. Ehhez olyan vizsgálati módszerek kellene, amelyek nem csupán az aglikonokról, hanem a származékokról is információt nyújtanak. Ez azért fontos, mert az egyes polifenolok szervezetben kifejtett hatása nagyban függ attól, hogy az adott polifenol pontosan milyen formában van jelen. A polifenol konjugátumok intakt formáinak vizsgálata, feltérképezése ugyanakkor összetett feladat és ezek vizsgálatára a folyadékkromatográfiával kapcsolt tömegspektrometria szolgáltatja leghatékonyabb mérési megközelítést. Doktori munkámban olyan speciális tömegspektrometriás polifenol vizsgálati módszereket alkalmaztam és fejlesztettem, melyek alkalmasak egyes növényekben található polifenol-konjugátumok pontosabb megismerése és feltérképezésére.

CÉLKITŰZÉS

Doktori munkám célja, hogy az élelmiszer- és táplálkozástudományi, valamint a növénybiológiai kutatásokhoz kapcsolódó polifenolvizsgálatok során felmerült néhány elméleti és gyakorlati kérdésre, analitikai eszközök segítségével megoldásokat keressek. Ennek érdekében munkám során tömegspektrométerrel kapcsolt analitikai módszereket alkalmaztam és fejlesztettem. Tevékenységem során három területhez kapcsolódóan végeztem tömegspektrometriás vizsgálatokat és módszerfejlesztéseket.

Elsőként hazai termesztésű gyógynövények polifenolvizsgálatával foglalkoztam, ahol céлом volt:

- A növényi kivonatokban szabad és kötött formában lévő fenolos savak kvantitatív meghatározása. Ezen belül a „timolos” és „nem timolos” kakukkfű populációk, továbbá a közönséges- és görög szurokfű populációk fenolos savas komponenseinek összehasonlítása.
- Továbbá e vizsgálatok kiegészítéseként flavonoid komponensek feltérképezése mindkét növényfaj esetében HPLC-MS/MS screening módszerrel.

Munkám második részében, a spanyolországi ösztöndíjas időszak alatt, az olíva növényben illetve olajban megtalálható oleuropein vizsgálatával foglalkoztam. Ennek kapcsán feladatom volt:

- Az oleuropein aglikon izomereknek feltételezett alkotók pontosabb azonosítása TOF-MS műszerkapcsolással.
- Illetve az olíva bogyó, olíva levél és olívaolaj összehasonlítása ezen származékok tekintetében.

Harmadik témakörként a konstitúciós izomériával rendelkező flavonoid aglikonok meghatározásának nehézségeire próbáltam megoldást találni. Ehhez egy olyan HPLC-MS/MS módszer fejlesztése volt a céлом mely kellő szelektivitást eredményez izomer aglikonokkal rendelkező flavonoid glikokonjugátumok esetén is. Ennek érdekében céлом volt, hogy:

- az izomer aglikonok tömegspektrumait vizsgálva találjak olyan diagnosztikus ionokat, melyek kellő diszkriminációs képességgel bírnak.
- a kidolgozott módszert valódi mintán alkalmazva igazoljam ennek megfelelőségét.

ANYAG ÉS MÓDSZER

A **gyógynövények polifenolos komponenseinek vizsgálatához** különböző növényanyagok vizes extraktumát használtam. A *Thymus vulgaris* L. azaz kerti kakukkfű különböző kemotípusait („timolos”: magas timol-tartalmú szelektált populáció és „nem timolos”: alfa-terpineol illetve alfa-terpinil-acetát kemotípusú szelektált populáció) illetve szurokfű (*Origanum vulgare* L. *subsp. hirtum* – görög oregánó, *Origanum vulgare* L. *subsp. vulgare* – közönséges szurokfű) állományokat választottuk ki. A minták a teljes virágzás idején lettek összegyűjtve, 2010 májusában, Soroksáron Budapesti Corvinus Egyetem, Gyógy- és Aromanövény Tanszék Kísérleti Gazdaságában. A vizes extraktumot a Magyar Gyógyszerkönyv (8. kiadás) előírási alapján kaptuk. Ezek után annak érdekében, hogy felmérhessem a szabad és származék formájában a mintában lévő fenol savas komponenseket két fajta minta-előkészítést alkalmaztam. Az első lényegét tekintve egy egyszerű hígítás, a másik pedig egy hidrolizált minta-előkészítés volt annak érdekében, hogy a konjugátumként jelen lévő fenolos savak felszabadulhassanak és a célkomponens-kereső módszer számára detektálhatóvá váljanak. A kísérleteket Agilent[®] (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) 1200 HPLC rendszeren és egy hozzá kapcsolt Applied Biosystems[®] (Foster City, CA, USA) 3200 Q-Trap hibrid hármas kvadrupól/lineáris ioncsapda MS/MS műszeren végeztem el, melyhez egy Turbo-V[®] elektroporlasztásos (electrospray, ESI) ionforrást használtam negatív ionizációs módban.

Az **oleuropein vizsgálatához** használt olívalevél és olívabogyó (Campiña Norte) a spanyolországi Jaén-i Egyetem saját termesztésű olíva fáiról származott. A vizsgált olívaolajok közül a „Fuenroble” márkanevvel jelzett olaj Jaén-tartományból származó olívabogyókból, míg a „Borges” olívaolaj különböző spanyolországi tartományokból származó olívabogyókból készül. Mindkét esetben a gyártók extra szűz olívaolajait használtam. Az extra szűz olívaolajban található fenolos komponenseket szilárd fázisú extrakcióval, míg az olívalevélben és olívabogyóban lévő komponenseket gyorsított oldószeres extrakcióval nyertem ki. A bepárlást Caliper Turbovap LV Concentration Workstation (Caliper LifeSciences, Barcelona, Spain) evaporáló készülékkel végeztem. Az ASE minta-előkészítés egy Dionex[®] ASE 200 (Dionex GmbH, Idstein, Germany) rendszeren történt. Az SPE minta-tisztítást Visiprep SPE vákuum-káddal (Supelco, Bellefonte, PA, USA) végeztem. A fenolos komponensek

elválasztását Agilent 1200-as (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) HPLC-n végeztem, mely egy vákuumos gázmentesítőt, egy automata mintaadagolót és egy bináris pumpát is tartalmazott. A HPLC rendszer egy Agilent 6220 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) ESI ionforrással rendelkező repülési idő (time-of flight, TOF) tömegspektrométerhez volt csatlakoztatva.

A **konstitúciós izomériával rendelkező flavonoid aglikonok** (apigenin-genisztein-pelargonoidin, cianidin-kaempferol-luteolin és delphinidin-heszperetin-kvercetin) meghatározási nehézségeire megoldást nyújtó módszer kifejlesztése után, a módszer megfelelőségének igazolására különböző növény mintákat mértem meg. Ennek során házi termesztésű cseresznyét, kereskedelmi forgalomban kapható fagyasztott meggyet, és az első témakörben bemutatott kakukk- és szurokfű fajtákat is felhasználtam. A minta-előkészítés során egy 15 ml-es műanyag centrifugacsőbe 200 mg liofilizált és homogenizált mintát mértem be majd 10 ml MeOH:H₂O:HCOOH 60:39:1 V/V elegyben szuszpendáltam. Ezt egy órára ultrahangos fürdőbe tettem, majd centrifugáltam. Ezt követően 8 ml felülúszót mértem ki, melyet vákuumban 1,5 ml-re pároltam. A bepárolt mintához 200 µl acetonitrilt és 20 µl 50 V/V%-ban hangyasavat tartalmazó vizet adtam, majd 2 ml-re egészítettem ki vízzel. Végül, 0,45 µm-es PTFE szűrőn leszűrtem. A kísérleteket Agilent® (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) 1200 HPLC rendszeren és egy hozzá kapcsolt Applied Biosystems® (Foster City, CA, USA) 3200 Q-Trap hibrid hármas kvadrupól/lineáris ioncsapda MS/MS műszeren végeztem el, melyhez egy Turbo-V® elektroporlasztásos (electrospray, ESI) ionforrást használtam pozitív ionizációs módban.

EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

A polifenol konjugátumok intakt formáinak vizsgálata, feltérképezése összetett feladat és ezek vizsgálatára a folyadékkromatográfiával kapcsolt tömegspektrometria szolgáltatja leghatékonyabb mérési megközelítést. Doktori munkámban olyan speciális tömegspektrometriás polifenol vizsgálati módszereket alkalmaztam és fejlesztettem, melyek alkalmasak egyes növényekben található polifenolkonjugátumok pontosabb megismerése és feltérképezésére.

Elsőként kakukk- illetve szurokfüvek polifenoljainak vizsgálatával foglalkoztam. Ezen belül a hazai termesztésű kakukkfüvek (*Thymus vulgaris* L.) „timolos” illetve „nem timolos” populációját továbbá a szintén hazai termesztésű szurokfüvek görög (*Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum*), illetve közönséges (*Origanum vulgare* L. subsp. *vulgare*) populációját hasonlítottam össze fenolos sav illetve flavonoid komponenseiket figyelembe véve. A kísérletek során olyan módszereket alkalmaztam, melyekkel vizsgálni tudtam a származék formában illetve szabadon előforduló legjellemzőbb fenolsavak arányát. A fenolos savak méréséhez tömegspektrometriás célkomponens módszert alkalmaztam, melyet kétfajta minta-előkészítés előzött meg. Egyrészt egyszerű vizes extrakcióval próbáltam minél kíméletesebben kinyerni a gyógynövényekben található komponenseket. Másrészt a vizes extraktum lúgos hidrolízisével az összetett (konjugált) formában lévő komponensek szabaddá tétele volt a céloom annak érdekében, hogy így azok láthatóvá váljanak a tömegspektrometriás célkomponens módszer számára. Az eredmények azt mutatták, hogy erre a lépésre szükség is volt, hiszen, az egyszerű vizes extrakcióval kinyert fenolos savak mennyisége 20-100-szor kevesebbnek bizonyult, mint amilyen a hidrolizáció után mért eredmény volt. A vizsgált gyógynövényekben az irodalomnak megfelelően a rozmaringsav volt jelen a legnagyobb koncentrációban. Azonban a ferulasav és a *p*-kumársav illetve a kakukkfű esetében a sziringinsav is jelentős mennyiségben fordult elő. A klorogénsav koncentrációja 3-40-szerese, a kávésav koncentrációja ~ 10-szerese volt a szurokfüvekben, mint a közönséges kakukkfüvekben populációtól függően. Továbbá klorogénsavból ötször, ferulasavból kétszer, szinapinsavból háromszor nagyobb koncentrációt mértem a görög oregánó mintában, mint a közönséges szurokfűben. A kakukkfűveknél a „timolos” mintákban a sziringinsav és rozmaringsav kétszer nagyobb mennyiségben volt jelen, mint a „nem timolos” típusban.

A fenolos savak vizsgálata során alkalmazott módszer a konjugált/szabad formák arányára vonatkozóan, a minta-előkészítés során alkalmazott lúgos hidrolízist felhasználva

tudott választ adni. Arról ez a megközelítés azonban nem nyújtott információt, hogy a konjugált formák esetében valójában milyen molekularészletek konjugálódtak az alapmolekulákhoz. A flavonoidok feltérképezése során ezért egy másik megközelítést alkalmaztam. A tömegspektrometriás módszerekben rejlő lehetőségeket kihasználva kívántam a konjugált ún. glikán részek minőségéről is információhoz jutni. Az eredmények azt mutatták, hogy mindkét vizsgált növényfajban az apigenin és a luteolin aglikonnal rendelkező komponensek vannak jelen a legnagyobb mennyiségben. A kakukkfűben luteolin származékából három, apigeninből egy, továbbá egy naringenin konjugátum, míg a szurokfű esetében luteolin aglikonnal rendelkező komponensből négy, apigeninből két származék azonosítását végeztem el.

Munkám második részében az olívaolajokban, az olívaogyóban és az olívalevélben található, jellemző polifenolnak, az oleuropeinnek illetve e komponens szabad formájának, az oleuropein aglikonnak vizsgálatával foglalkoztam. A kutatás apropóját az irodalomban közölt azon megfigyelések adták, miszerint az oleuropein aglikon és ligsztrozid aglikonok nem célzott vizsgálata során e vegyületek számos izomer formáját mutatták ki. Ezen izomerek létezésére, illetve létjogosultságára meggyőző biológiai magyarázatokkal nem rendelkezünk. Kérdésként merült fel tehát, hogy valóban izomer formák-e ezek a kimutatott és izomereknek tekintett alkotók. Nem lehet, hogy ezek valójában nem izomerek, hanem valamilyen oleuropein származékok, melyek a vizsgálati módszerek hibás alkalmazása miatt vezettek hibás konklúziókra? Vizsgálataim során nem célzott módon történő tömegspektrometriás vizsgálatokat hajtottam végre annak érdekében, hogy az iménti hipotézist vizsgálhassam. Eredményeim igazolták, hogy néhány oleuropein izomernek feltételezett alkotók egy része valójában nem izomer, hanem egy CH_4O molekularészlettel több, mint az eredeti aglikon. Ezek keletkezésével kapcsolatban nincs pontos információnk. Elképzelhető, hogy endogén komponensek, azaz az olíva érése, feldolgozása során kialakuló származékok. Ugyanakkor Karkoula és mtsai elméletét sem szabad figyelmen kívül hagyni, miszerint a minta-előkészítés során is keletkeznek műtermékek, melyek az oleuropein aglikon vizsgálatokor megjelenhetnek. További érdekességként – és az alkalmazott technika kritikájaként, az óvatosság jegyében – azt is érdemes megemlíteni, hogy amennyiben szűkítjük a tömegablak szélességét, azaz növeljük a pontosságot, sem az oleuropein aglikont, sem a főső tömegeket nem találjuk meg, ami a technika határait mutatja. Ha az értékelést a szoftver egy frissebb (B 06.00) verziójával is elvégezzük, akkor az általunk oleuropein aglikonként beazonosított m/z 377,1242 tömegű komponens kiemelt ionkromatogramjának vizsgálatakor a program $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_5$ összegképletű molekulaként azonosította a legtöbb 377 Da tömegű komponenst a csúcspécspektrumok aláján. Ez

egyrész történhet a már említett technikai határok miatt, másrészt az is elképzelhető, hogy ezek a komponensek nem oleuropein komponensek, hanem olyan más, még ismeretlen molekulák, melyek az oleuropeinhez csupán nagyon hasonló tömegűek. Azonban ez utóbbi feltételezésnek a valószínűsége nem túl nagy, tekintettel a minta jellegére, hiszen az olívában található polifenolos komponensek egyik legjellemzőbb molekulája az oleuropein.

Doktori munkám harmadik részében egy olyan speciális tömegspektrometriás módszer kifejlesztését mutattam be, mely az azonos iontömegű aglikonnal rendelkező flavonoid glikokonjugátumok megkülönböztetésére és meghatározására alkalmas. Ilyen módszerre azért lehet szükség, mert a konstitúciós izomerek szelektív azonosítása még a nagy tömegfelbontású MS készülékek esetében sem lehetséges. Munkám során sikerült erre a problémára megoldást találnom olyan tandem tömegspektrometriás vizsgálati módszer alkalmazásával, melyben a flavonoid glikokonjugátumokból ionforrás fragmentációval előállított (izomer) aglikon ionokat további szelektivitást eredményező fragmentációnak vettem alá. Ezt követően olyan jellemző fragmentumokat választottam további vizsgálatra, melyek keletkezési gyakorisága specifikus a komponensekre nézve, függetlenül attól, hogy aglikonként vagy származékként fordulnak elő a mintában. A módszer kidolgozásához cianidin-kaempferol-luteolin, pelargonidin-geniszteín-apigenin és delphinidin-heszperetin-kvercetin standardokat és ezek glikozidjait használtam. A vizsgálatok során sikerült megbizonyosodni arról, hogy az ionforrás fragmentáció során lehasadó aglikonok, illetve az eleve aglikonként jelen lévő molekulák fragmentációs mintázata azonos képet mutat, így a konjugáció nem befolyásolja a módszer megfelelőségét. A kísérletek eredményeképpen sikerült meghatározni minden azonos iontömegű aglikonnal rendelkező molekulacsoportban (m/z 271, m/z 287, m/z 303) olyan négy fragmentumot, melyek egymáshoz viszonyított gyakorisági aránya ezek közül csak egy fajta komponensre jellemző, ezáltal szelektíven meghatározható. A kidolgozott módszert négy növényfajon próbáltam ki. A házi fekete cseresznyéből két cianidin, két pelargonoidin, négy heszperetin és egy kaempferol származékot tudtam meghatározni. A kereskedelmi forgalomban kapható meggy esetében két pelargonidin, három geniszteín, négy cianidin, egy kaempferol és hat kvercetin származékot sikerült azonosítani. Az 5.1. fejezetben bemutatott gyógynövényeket ezen módszerrel vizsgálva, a kakukkfűben egy apigenin és két luteolin származékot, míg a szurokfűben két apigenin és két luteolin származékot találtam. Ezek megegyeztek az 5.1. fejezetben talált komponensekkel. Összefoglalásként elmondható, hogy sikerült egy olyan módszert kidolgozni, mely képes meghatározni és megkülönböztetni az azonos összegképletű aglikonnal rendelkező (izomer) molekulákat egymástól úgy konjugátum, mint szabad formában.

4. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1) Megállapítottam, hogy a kakukk- illetve szurokfüvekből nyert vizes extraktumokban lévő fenolos savak döntő többsége konjugátumok formájában vannak jelen.

Ezt a kakukkfűre jellemző sziringinsav, a szurokfűre jellemző szinapinsav valamint mindkét növényben egyaránt fontos fenolos savként jelen lévő p-kumársav és ferulasav esetén, mindkét növény több kemotípusán végzett vizsgálat alapján igazoltam.

2) Eredményeimmel igazoltam, hogy a kakukkfűben és szurokfűben lévő fenolos savakhoz társított biológiai hatások nem ítélték meg csupán a szabad (dekonjugált) formák biológiai hatásának vizsgálatára alapján.

3) Nagy tömegfelbontású és pontos tömegmérésre alkalmas tömegspektrometriás vizsgálatokkal igazoltam, hogy az olívbogyó, az olívalevél és olívaolaj egyik legfontosabb polifenoljából, az oleuropeinből az érés és a feldolgozási technológia során keletkező, ezidáig az oleuropein aglikon izomereinek vélt alkotók egy része valójában nem izomer, hanem az oleuropein aglikon származékai.

A származékok pontos szerkezete nem ismert, vizsgálataim alapján ugyanakkor ezekről annyi megállapítható, hogy az oleuropein aglikonhoz (összegképlete: $C_{19}H_{20}O_8$) képest CH_4O molekularészlettel nagyobb $C_{20}H_{25}O_9$ összegképletű alkotók jelenlétét is több esetben igazoltam.

4) Kidolgoztam egy olyan tömegspektrometriás módszert, mely alkalmas izomer aglikonnal rendelkező flavonoid glikokonjugátumok szelektív azonosítására.

Apigenin-genisztein-pelargonoidin, cianidin-kaempferol-luteolin és delfinidin-heszperetin-kvercetin standardokkal, illetve ezek gliko-származékaival végzett kísérletekkel igazoltam, hogy e komponensek aglikon magját képező izomer/izobár alkotóknak meghatározhatók olyan diagnosztikus fragmens ionjai, melyek együttes vizsgálatával egyértelműen megkülönböztethetők az azonos összegképletű aglikonnal rendelkező flavonoid glikokonjugátumok.

Bizonyítottam továbbá, hogy az izomer/izobár aglikonok kiválasztott diagnosztikus ionjainak relatív gyakoriságai jól reprodukálhatóak és informatívak akkor is, ha az MS/MS kísérletben prekursor ionként tekintett aglikon iont, a glikokonjugátumukból ionforrás fragmentációval állítottuk elő.

5) Igazoltam a módszer alkalmazhatóságát valódi mintákból.

Ennek keretében a házi fekete cseresznye mintából egy cianidin-hexozid, egy cianidin-hexozid-dezoxihexóz, egy kaempferol-3-*O*-rutinozid, egy pelargonidin-3-*O*-glükozid, egy pelargonidin-hexozid-dezoxihexóz komponenst találtam. Továbbá négy kvercetin molekulát, mint a kvercetin-dihexóz-dezoxihexózt, a kvercetin-hexozid-dezoxihexózt, egy kvercetin-hexozidot és egy pontosan beazonosított kvercetin-3-*O*-glükozidot találtam.

A meggy mintából két pelargonidin (pelargonidin-dihexóz-dezoxihexóz, pelargonidin-hexozid-dezoxihexóz) és három genisztein (genisztein-7-glükozid, illetve további két genisztein-hexozid) komponenst határoztam meg. Továbbá három cianidin származék is azonosításra került. Ezek közül az egyik egy pentóz-hexóz-dezoxihexóz konjugátummal rendelkező cianidin származék, melyről az eredmények alapján valószínűsíthető, hogy cianidin-3-*O*-xilosil-rutinozid, melyet eddig csak bogyós gyümölcsökben azonosítottak. Ezen kívül azonosítottam egy kaempferol-3-*O*-rutinozid két kvercetin-dihexóz-dezoxihexóz, két kvercetin-hexóz-dezoxihexóz, két kvercetin-hexozid származékot, melyek közül az egyik egy kvercetin-3-*O*-glükozid.

Továbbá a gyógynövények flavonoid mintázatának feltérképezéséhez használt mintákat is felhasználtam a módszer bemutatásához, melynek eredményeképpen sikerült a fő komponenseket azonosítani.

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK

Impakt faktoros folyóiratcikkek:

Papp, N., **Szilvássy, B.**, Abrankó, L., Szabó, T., Pfeiffer, P., Szabó, Z., Nyéki, J., Ercisli, S., Stefanovits-Bányai, É., Hegedűs, A. (2010): Main quality attributes and antioxidants in Hungarian sour cherries: identification of genotypes with enhanced functional properties. *Int. J. Food Sci. Tech.*, 45 (2) 395-402. p. **IF 1,065**

Blanka Szilvássy, Gábor Rak, Szilvia Sárosi, Ildikó Novák, Zsuzsanna Pluhár, and László Abrankó (2013): Polyphenols in the Aqueous Extracts of Garden Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Chemotypes Cultivated in Hungary. *Natural Product Communications* 8 (5) 605-608.p. **IF: 1.242**

Abrankó, L.; Nagy, Á.; **Szilvássy, B.**; Stefanovits-Bányai, É.; Hegedűs, A., (2014) Genistein isoflavone glycoconjugates in sour cherry (*Prunus cerasus* L.) cultivars, *Food Chemistry*, 2014, megjelenés alatt. **IF: 3.334**

Magyar nyelvű (összefoglaló)

Szilvássy B. Sárosi Sz., Novák I., Pluhár Zs., Abrankó L. (2011): Kakukkfűvek vizes kivonatában található nem-illó polifenolok vizsgálata, MKE 1 Nemzeti Konferencia, Sopron 2011. május 22-25. ISBN 978-963-9970-11-3, 240.o.

Nemzetközi konferencia (összefoglaló)

Blanka Szilvássy - Dr. Szilvia Sárosi - Ildikó Novák - László Abrankó (2011): Effects of different drying treatments on phenolic acids in Thymes (*Thymus vulgaris*). Euroanalysis2011. 2011. szeptember 12-15., Belgrád, Szerbia.

Blanka Szilvássy - Abrankó László (2011): Mass spectrometric profiling of flavonoid glycoconjugates having isomeric aglycone nuclei. 5th International Conference on Polyphenols and Health. 2011. október 16-20., Barcelona-Sitges, Spanyolország.

