

In vitro humán emésztési modellek alkalmazása a táplálkozástudomány területén

Application of in vitro human digestion models in the field of nutrition science

Esszenciális aminosavak fotometriás meghatározása, 2. rész

Vega hamburgerek, vegán húsok?

Tejtermékek SPME mintaelőkészítése

Érzékszervi bírálók látásvizsgálata

Mikrozöldségek különböző zöldségfajokból

Photometric determination of essential amino acids, Part 2. • Vega burgers, vegan meats? • Sample preparation of dairy products using SPME • Vision testing of sensory reviewers • Microgreens from different species of vegetables



TARTALOM – CONTENTS

- In vitro humán emésztési modellek alkalmazása a táplálkozástudomány területén 3140
 (Antal Otilia, Némethné Szerdahelyi Emőke, Takács Krisztina)
Application of in vitro human digestion models in the field of nutrition science
 (Otilia Antal, Emőke Némethné Szerdahelyi, Krisztina Takács)
- Vega hamburgerek, vegán húsok? Az Európai Parlament döntése a növényi alapú húspótló élelmiszerek elnevezéséről 3158
 (Bánáti Diána)
Veggie burgers, vegan meats? The ruling of the European Parliament paved the way for meat substitutes with meat denominations
 (Diána Bánáti)
- Élelmiszerek aminosav összetételének meghatározása fotometriás módszerekkel, 2. rész - A metionin, a cisztin, a lizin és az arginin meghatározása 3176
 (Kiss Dóra, Juhászné Tóth Réka, Zurbó Zsófia, Csapó János)
Determination of amino acid composition of foods by photometric methods, Part 2 - Determination of methionine, cystine, lysine and arginine
 (Dóra Kiss, Réka Juhászné Tóth, Zsófia Zurbó, János Csapó)
- SPME technika alkalmazása a tejipari termékek minőségi mutatóinak meghatározásához 3188
 (Székelyhidi Rita, Hanczné Lakatos Erika, Ajtony Zsolt)
Application of the SPME technique for determinate the quality indicators of dairy products
 (Rita Székelyhidi, Erika Hanczné Lakatos, Zsolt Ajtony)
- Érzékszervi bírálók látásvizsgálati tesztjei - áttekintés 3202
 (Sipos László, Nyitrai Ákos, Szabó Dániel, Urbin Ágnes, Nagy Balázs Vince)
Vision tests of sensory judges - review
 (László Sipos, Ákos Nyitrai, Dániel Szabó, Ágnes Urbin, Balázs Vince Nagy)
- Különböző zöldségfajokból előállított mikrozöldségek (microgreen-ek) értékelése 3220
 (Kovácsné Madar Ágota, Takácsné Hájos Mária)
Evaluation of various microgreen vegetables
 (Ágota Kovácsné Madar, Mária Takácsné Hájos)
- Nemzeti szabványosítási hírek 3232
 (Szalay Anna)
Review of national standardization
 (Anna Szalay)
- Prof. Dr. Csapó János egyetemi tanárt Életfa díj bronz fokozatával tüntették ki 3234
 (Szigeti Tamás János)
Prof. Dr. János Csapó, professor, was awarded the bronze degree of the Tree of Life Award
 (Tamás János Szigeti)
- A Viresol Kft. minőségellenőrző- és kutatólaboratórium ismertetése 3236
 (Ismeretterjesztő PR cikk)
 (Rapi Sándor, † Forgó Péter, Barta Zsolt)
Description of the quality control and research laboratory of Viresol Ltd. Visonta, Hungary
 (Educational PR article)
 (Sándor Rapi, Péter Forgó, Zsolt Barta)

HU ISSN 2676-8704



Tudományos folyóiratunk tartalma 2021-től szabadon hozzáférhető a www.eviko.hu honlapon.

The content of our scientific journal will be freely available on the website www.eviko.hu from 2021.



Kedves Olvasóink!

November utolsó napjai telnek, miközben a végső simításokat végezzük az ÉVIK 2020. esztendei negyedik számán. A tél késik ugyan, de már aláhullottak az ősz szín pompás levelei. „Ősz húrja zsong, / Jajong, busong / A tájon, S ont monoton / Bút konokon / És fájón!”

A 65 éves ÉVIK utolsó nyomtatott verzióját tartja kezében az Olvasó. A tudományos szakfolyóirat Kiadójának döntése szerint a periodika 2021-től csak elektronikus formában fog megjelenni az eddig megszokott tartalommal és gyakorisággal a www.eviko.hu honlapon. A tudományos közleményeket továbbra is negyedévenként fogjuk megjelentetni magyar és angol nyelven szabadon hozzáférhető – **Open Access** - rendszerben. A szaklap szerkesztését az online megjelenés miatt a könnyebb olvashatóság érdekében fogjuk átalakítani. Bízunk benne, hogy kiadványunkkal meg tudjuk tartani szerzőink megtisztelő bizalmát és Olvasóink érdeklődését.

Vezető anyagunkat **Antal Otilia és szerzőtársai** jegyzik. Kéziratukban az emberi tápcsatornában zajló emésztési folyamatokat modellező rendszerekről számolnak be. Az in-vitro körülmények között megvalósított emésztési kísérletekkel – amelyeket a szerzők maguk is folyamatosan végeznek – egyre nagyobb részletességgel segít megérteni az élelmiszerek összetevőinek lebontásának és felszívódási folyamatait, illetve azok hatásait az ember egészségére. A szerzők emésztési kísérleteiket a 32 ország kutatóit egyesítő COST INFOGEST program keretei között végzik.

A társadalom egyes rétegeiben szenvedélyes vita folyik a húsfogyasztás környezeti hatásairól és etikai megítéléséről. Szakértők és laikusok gyakran vitatják, hogy indokolt-e a húsmentes étrendbe tartozó élelmiszerek esetében húsokból készült élelmiszerek érzékszervi tulajdonságait utánozni. **Bánáti Diána** szakirodalmi összefoglalójában a „reform-táplálkozási” mozgalmak révén mind nagyobb teret hódító vegán és vegetáriánus igényeket kielégíteni szándékozó élelmiszer-előállítási technológiákról, a téma jelenlegi európai élelmiszerjogi helyzetéről és kérdőíveken begyűjtött fogyasztói véleményekről számol be.

Kiss Dóra és munkatársai egyszerűsített, fotometriás aminosav-analitikai módszereket egybegyűjtő dolgozatának második részében a nem aromás, két esszenciális, illetve részben esszenciális aminosavak – rendre a metionin, cisztin, lizin, arginin – analitikájának szakirodalmi összefoglalását készítették el.

Székelyhidi Rita és szerzőtársai a szilárdfázisú mikroextrakción (SPME) alapuló mintaelőkészítés tejipari termékek vizsgálatához való alkalmazásáról állítottak össze szakirodalmi összefoglalót. Dolgozatukban zsírsavak, aldehidek, észterek, alkoholok, kéntartalmú szerves vegyületek, furánok, fenolok és terpenoidok extrakciós lehetőségeit foglalták össze. A vegyületek elválasztástechnikai detektálása módszereinek leírása a kézirathoz tartozó, 74 hivatkozást tartalmazó irodalomjegyzék cikkeiben állnak az Olvasók rendelkezésére.

Sipos László munkacsoportja kéziratában az érzékszervi bírálók látásvizsgálati tesztejéről olvashatnak. A dolgozatban ismertetik a látás szín-, alakfelismerő és a képfelbontó képesség ellenőrzésének módszereit.

Kovácsné M. Ágota és Takácsné H. Mária munkája az étrend zöldség-kiegészítésének lehetőségeit bővítő termékcsoporthról, a mikro-zöldségekről szól. A mikro-zöldségek – az agolszász terminológiában microgreen-ek – a csíranövényeknél fejlettebb, de a kifejlett növényekhez képest fiatalabb fenotípusú növények zöld részeit jelentik, amelyek a hagyományos zöldségekhez képest nagyobb mennyiségben tartalmazhatnak az ember számára értékes vitaminokat és ásványi anyagokat.

Olvasóinkat büszkén tájékoztatom arról, hogy Szerkesztőbizottságunk tagja, **Prof. Dr. Csapó János** egyetemi tanár Dr. Nagy István agrárminisztertől 2020. október 23-án, kiemelkedő tevékenységéért Életfa bronzfokozatú emlékplakett kitüntetésben részesült. Szerkesztőbizottságunk nevében gratulálók, további sikereket, egészséget, magánéletében boldog éveket kívánok Professzor Úrnak.

Olvasóinknak jó olvasást, boldog Adventi készülődést, és kegyelemteljes, áldott karácsonyi ünnepeket, boldog újévet kívánok.

Dr. Szigeti Tamás János
főszerkesztő

Dear Readers!

The last days of November passes as we make the final touches on the fourth issue of ÉVIK 2020. Winter is late, but the colourful leaves of autumn have already fallen. „When a sighing begins, / In the violins / Of the autumn-song, / My heart is drowned / In the slow sound / Languorous and long.”

The reader is holding the last printed version of the 65-year-old *Journal of Food Investigation* (JFI – ÉVIK). According to the decision of the Publisher of the scientific journal, from 2021 the periodical will only be published in electronic form with the usual content and frequency on the website www.eviko.hu. Scientific publications will continue to be published quarterly in Hungarian and English in the **Open Access** system. The structure of the journal will be redesigned for easier reading due to its online appearance. We hope that with this publication we can keep the honourable trust of our authors and the interest of our Readers.

Our leading article is written by **Antal Otilia and co-authors**. In their manuscript, they report on systems that model digestive processes in the human gastrointestinal tract. With in-vitro digestion experiments – which the authors themselves carry out on an ongoing basis – it helps more detailed to understand the digestive and absorption processes of food ingredients and their effects on human health. The authors conduct their digestion experiments as part of the COST INFOGEST program, which covers researchers from 32 countries.

There is a passionate debate in some segments of society about the environmental impacts and ethical perceptions of real meat consumption. Experts and lay people often argue whether it is appropriate to imitate the organoleptic properties of foods made from meat in the case of foods included in a meat-free diet. In her literature review, **Diána Bánáti** reports on food production technologies seeking to meet the growing needs of vegan and vegetarians through the “reform-nutrition” movements, the current European food law situation of the topic and the consumer opinions collected in questionnaire interviews.

In the second part of dissertation of **Dóra Kiss et al.** summarizing simplified, photometric amino acid analytical methods. Prepared a literature review of the analysis of two non-aromatic, essential and semi-essential amino acids – respectively methionine, cystine, lysine, arginine.

Rita Székelyhidi and co-authors made a literature review on the application of sample preparation based on solid phase microextraction (SPME) to the testing of several dairy products. Their dissertation summarized the extraction possibilities of fatty acids, aldehydes, esters, alcohols, sulfur-containing organic compounds, furans, phenols and terpenoids. A description of the methods for the separation detection of compounds is available to readers in the bibliography of the manuscript, which includes 74 references.

In the manuscript of **László Sipos' working group** summarise several vision tests for sensory testing persons. The paper describes the methods of colour, shape recognition and image resolution control of vision.

The work of **Ágota M. Kovács and Mária H. Takácsné** is about the, micro-vegetables products, which expands the possibilities of supplementing vegetables in the diet. Micro-vegetables – micro-greens in Anglo-Saxon terminology – are green parts of plants that are more developed than seedlings but younger than adult plants and may contain higher amounts of vitamins and minerals valuable to humans than traditional vegetables.

I am proud to inform you that a member of our Editorial Board, **Prof. Dr. János Csapó**, a university professor, was awarded a bronze plaque of the Tree of Life on October 23, 2020 for his outstanding work. The price was presented by Dr. István Nagy, Hungarian Minister of Agriculture. On behalf of our editorial board, I happy to congratulate for him and I wish for him further success, health and happy years in his private life.

I wish our readers good reading, a happy preparation for Advent, and a gracious, blessed Christmas, and Happy New Year.

Dr. Tamás János Szigeti
Editor-in-chief

¹ Paul Verlaine: Őszi chanson (Fordította: Tóth Árpád)

¹ Paul Verlaine: Autumn Song (Translated: Arthur Symons)



A kép illusztráció / Picture is for illustration only.

Antal Otilia¹, Némethné Szerdahelyi Emőke¹, Takács Krisztina¹

Érkezett: 2020. február – Elfogadva: 2020. augusztus

In vitro humán emésztési modellek alkalmazása a táplálkozástudomány területén

Kulcsszavak: statikus, dinamikus, szemi-dinamikus emésztési modellek, TIM-1 és TIM-2 emésztési modell, SHIME-modell (Simulator of Human Intestinal Microbial Ecosystem), INFOGEST in vitro humán emésztési protokoll;

1. ÖSSZEFOGLALÁS

A tápcsatornában végbemenő emésztés szimulálása széles körben elterjedt eljárás az élelmiszer- és táplálkozástudomány különböző területein a gyógyszeripar mellett, mivel a humán klinikai vizsgálatoknál és az állatkísérleteknél kevésbé költség- és munkaigényes, és etikai problémákat sem vet fel. Az emésztés folyamata az élelmiszerekben található tápanyagokat és bioaktív vegyületeket fiziológiailag aktív vegyületekké alakítja. Az in vitro emésztési modellek hatékony eszköznek bizonyulnak az emésztés során zajló komplex transzformációs folyamatok teljeskörű megértésében, megfigyelésében. Természetesen az in vitro vizsgálatok nem helyettesíthetik az in vivo kísérleteket, de az in vivo vizsgálatok előtt a minták előszűrésében, rangsorolásában, osztályozásában kulcsfontosságú a szerepük. Ebben a cikkben bemutatjuk, hogy miért fontosak az in vitro emésztési modellek, hogyan és milyen felépítésű rendszerekben használhatók. Számos in vitro emésztési modellt alakítottak ki statikus, dinamikus és szemidinamikus formában. Jelen összefoglalónkban bemutatjuk a COST INFOGEST program keretében létrehozott egységesített statikus modellt, amely 32 ország több mint 200 kutatójának részvételével egyezményen alapuló egységes protokoll az élelmiszerminták in vitro emésztésére. Az egységesített modell alkalmazásával lehetővé vált a különböző kutatócsoportok eredményeinek összehasonlítása is.

2. Bevezetés és irodalmi áttekintés

2.1. Emésztés, felszívódás – dióhéjban

A neurohormonálisan szabályozott [1] emésztés során a táplálék mechanikai és biokémiai folyamatok meghatározott sorozata révén bomlik le (1. ábra). A tápanyagok makromolekulákból (fehérjékből, lipidekből, szénhidrátokból) származó testépítőanyagok és energiaforrások; valamint a vitaminok; ásványi anyagok, nyomelemek az intesztinális barrieren (bélgáton) keresztül jutnak be a vér és nyirokkeringésbe a felszívódás (abszorpció) folyamata révén [2].

Az emésztés a szájban kezdődik, majd a gyomor-bél traktus (gyomor, duodenum, jejunum) úrterein folytatódik. A tápanyagok 90%-a a vékonybélben (jejunum, ileum) szívódik fel, a többi pedig a gyomorban (ventriculus, gaster) és a vastagbélben (colon). Az

abszorpciót a vékonybél nyálkahártya (mucosa) és a nyálkahártya alatti réteg (submucosa) körkörös redői, valamint a bélbolyhok (villi), a felszívó hámsejtek nyúlványai (microvilli, kefeszegély) segítik. A lumenális emésztés legfontosabb támogatói a tápcsatorna mirigyei által kiválasztott nedvekben található enzimek, melyek a makromolekulák lebontásának katalizátorai; valamint a mikrobolyhok plazma membránjában található kefeszegélyenzimek. A vékonybél felé haladva a vékonybélnedv a hasnyállal keveredve semlegesíti a gyomorból érkező savas kimuszt (gyomortartalom), ami a tápanyagok további hidrolíziséhez és felszívódásához szükséges.

A vékonybélbe szekretált epeváladék a zsírok emulgeálása révén segíti elő a pankreatikus lipáz általi hidrolízist. Az epesavaknak, az által, hogy micellák formájában szolubilizálják az emésztés termékeit, a felszívódásban is fontos szerepük van [3].

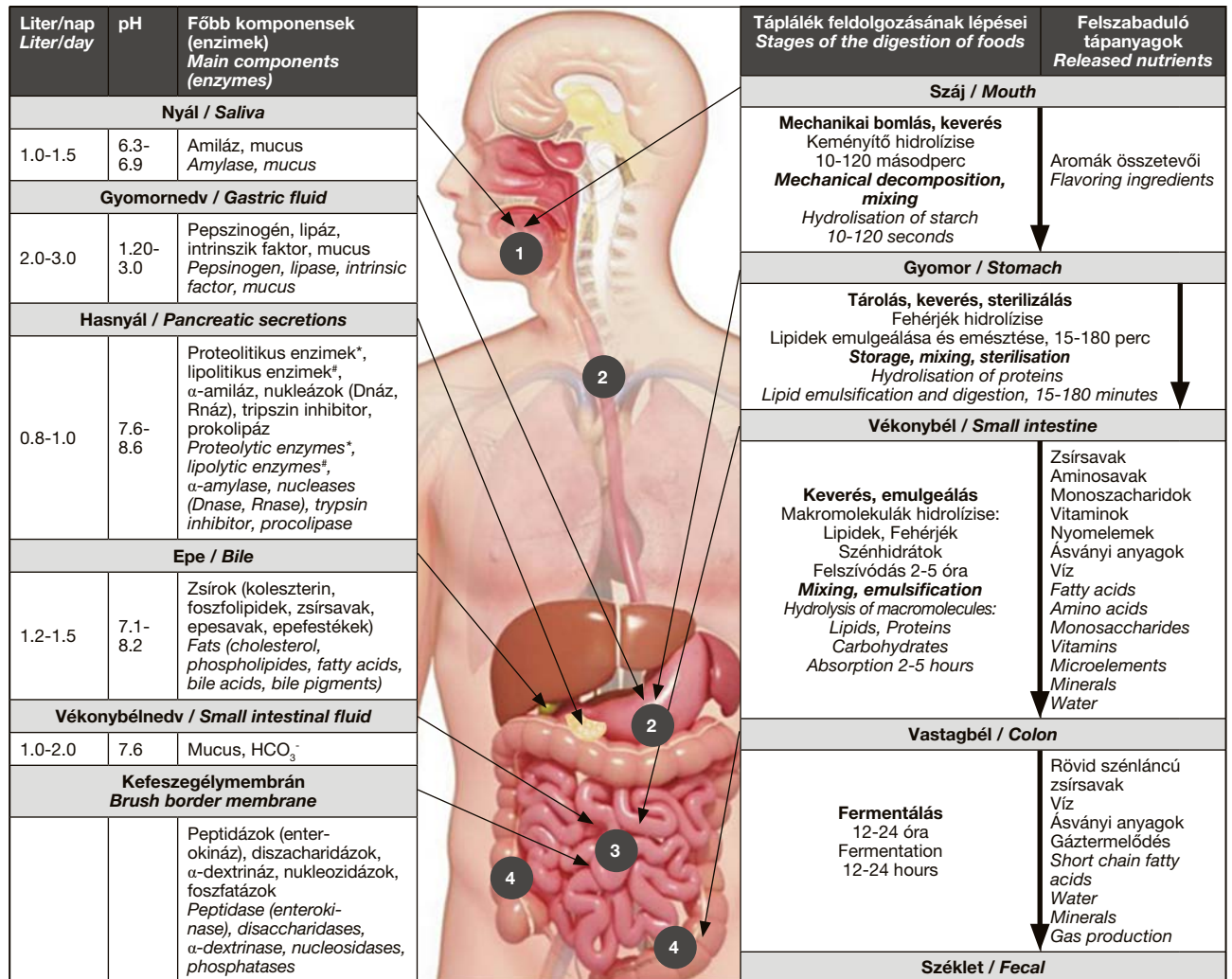
¹ Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ, Élelmiszer-tudományi Kutatóintézet, Biológia Osztály

2.2. Az *in vitro* emésztési modellek fontossága

Az emésztés összetett biokémiai folyamatrendszer, melynek fiziológiai körülményeit igen nehéz pontosan reprodukálni. A táplálkozással kapcsolatos kérdésekre humán vizsgálatokkal kaphatjuk meg a legpontosabb válaszokat, a szimulált *in vitro* gyomor-bélrendszeri emésztést mégis széles körben alkalmazzák az élelmiszer- és táplálkozástudomány területén, mivel az élelmiszerek *in vivo* emésztésének tanulmányozása (klinikai vizsgálatokkal, állatkísérletekkel) erőforrás-igényes és sokszor etikailag megkérdőjelezhető

[7, 8]. Az állatmodellek élettani folyamatai nem mindig feleltethetők meg az emberi szervezetben lejátszódó élettani folyamatoknak [9], az eredmények értelmezését és a kísérlet reprodukálhatóságát pedig megnehezíthetik a kísérleti egyedek közti nagy különbségek [10, 11].

Az *in vivo* vizsgálatokkal szemben az *in vitro* módszerek előnyei, hogy költséghatékonyak, kevésbé munkaigényesek, nincs etikai korlátjuk, gyorsabbak, egyszerűbben kezelhetők, kisebb kockázatúak, és kevesebb felelősséggel járnak [11, 12].



1. ábra. Humán emésztési folyamatok összefoglaló ábrája (forrás: [3, 4, 5, 6, 63])
Figure 1. Summary diagram of human digestive processes (source: [3, 4, 5, 6, 63])

*A hasnyál proteolitikus enzimeit: tripszinogén; proelasztáz; kimotripszinogén; prokarboxipeptidáz A és B; / Proteolytic enzymes in the pancreas: trypsinogen; proelastase; chymotrypsinogen; procarboxypeptidase A and B;

#A hasnyál lipolitikus enzimeit: pankreatikus lipáz, foszfolipáz A2, nem specifikus lipáz (koleszterin észteráz) / Lipolytic enzymes of pancreatic secretion: pancreatic lipase, phospholipase A2, non-specific lipase (cholesterol esterase).

A bélcsatorna részei:

1 **Fejbél:** száj(üreg), garat; 2 **Előbél:** nyelőcső, gyomor; 3 **Középbél:** vékonybél melynek az emésztési felülete a patkóbél (duodenum) az éhbél (jejunum); a felszívódási felülete az éhbél (jejunum) és a csipőbél (ileum). A középbélhez tartozik még a máj (epét termeli) és a hasnyálmirigy (hasnyálat termeli); 4 **Utóbél:** vastagbél (colon) (részei: vakbél, remesebél/felszálló, haránt, leszálló, szigmbél/végbél)

Parts of the intestinal tract:

1 **Headgut:** oral cavity, pharynx; 2 **Foregut:** esophagus, stomach; 3 **Midgut:** small intestine whose digestive surfaces are the duodenum and the jejunum; its absorption surfaces are the jejunum and the ileum. The midgut also includes the liver (producing bile) and the pancreas (producing the pancreatic juice); 4 **Hindgut:** large intestine (colon, parts: appendix, caecum, ascending, transverse, descending and sigmoid colon).

Csak a vizsgált mechanizmusra fókuszálnak; ellenőrzött körülményeket és könnyű mintavételi lehetőségeket nyújtanak; szűrési célok esetén nagyszámú minta párhuzamos mérésére alkalmazhatók. A vizsgálatok könnyen reprodukálhatók a kísérleti paraméterek ellenőrzése és standardizálása által [11]. Magukban foglalják száj-, gyomor- és vékonybél fázisokat, alkalmanként a vastagbél fermentációs szakaszát is. Az *in vitro* módszerek megkísérik valóság-hűen utánozni az *in vivo* fiziológias körülményeket, a tápcsatornán keresztül lezajló enzimikus és mikrobiológiai emésztési folyamatokat, figyelembe véve az emésztő enzimek jelenlétét és azok koncentrációját, a pH-t, az emésztési időt, illetőleg a sókoncentrációt. Az *in vitro* vizsgálatok nem helyettesíthetik az *in vivo* kísérleteket, de nagyszámú minta előszűrését, rangsorolását és osztályozását elősegítő eszközként tekinthetünk rájuk [13]. Így az állatetetés kísérletekhez történő előszűrés segítségével kevesebb kísérleti állatra van szükség, a humán sejteken és mikrobiótán végezhető kísérletek (vastagbél modell) esetén pedig a felszívódás, a különböző metabolitok felszabadulása modellezhető.

2.3. Az *in vitro* emésztési modellek alkalmazhatósága

Az élelmiszerek esetében az egyes komponensek tápértékének összege nem biztosít teljes képet a szervezet számára elérhető valós tápértékről. Az *in vitro* emésztés lehetőséget ad arra, hogy analitikai módszerekkel vizsgáljuk a tápcsatornába bekerülő élelmiszer-mátrixból a gasztrointesztinális traktuson való áthaladás során felszabaduló komponensek mennyiségét, azaz a bioaktív funkcióját (bioactivity), biológiai hozzáférhetőségét (bioaccessibility), valamint a felszívódás helyén a szervezet számára való biológiai elérhetőségét, biológiai hasznosulást (bioavailability) [11].

E modellek alkalmazásával arra keressük a választ, hogy ezen lebomlott komponenseknek megmarad-e a biológiai aktivitása, és ha igen akkor ez a bioaktív forma hogyan hasznosul: felszívódik-e, illetve képes-e aktív formában hasznosulni.

A gyakorlatban, az *in vitro* emésztést követően az emésztményt centrifugálják és/vagy a kolloidális diszperziót képző nem-emésztett összetevők jelenléte miatt szűrik (ultrafiltráció), dializálják, majd a kapott felülúszóban meghatározzák a biológiai hozzáférhető komponensek mennyiségét. A dialízis alkalmazása és az oldhatóság mérése (centrifugálás és/vagy szűrés révén) azonban még ugyanazon minta esetén is eltérő biológiai hozzáférhetőség-értékekhez vezethet [14, 15]. Az sem általánosítható, hogy a dialízissel vagy az oldhatóság mérésével kapunk nagyobb értékeket [14, 16, 17]. Azt is figyelembe kell venni, hogy nem minden oldódó vagy dializálható összetevő szívódik fel a szervezetben; ugyanakkor olyan komponensek is átdiffundálhatnak a félig átteresztő membránon, amelyek a valós körülmények között

nem képezik a biológiai hozzáférhető frakció részét [11, 18, 19].

A biológiai hozzáférhetőség ismerete fontos lehet az élelmiszerfejlesztés során a megfelelő feldolgozási technológia kiválasztásakor. Előfordulhat, hogy más gyártási technológia bizonyul előnyösebbnek ha azt az adott élelmiszerkomponens biológiai hozzáférhetősége alapján, és nem a lebomlás mértéke alapján választják ki [20]. A vizsgálatok hasznosak az élelmiszerfeldolgozás hatásainak összehasonlításában, valamint a különböző fehérjeforrások rangsorolásában, valamint az emésztést potenciálisan befolyásoló tényezők vizsgálatában [19]. Az *in vitro* vizsgálatok alkalmazhatók az élelmiszerek glikémiás hatásának becslésére [19, 21, 22], genetikailag módosított termékek biztonságosságának felmérésére [11, 23], fehérjék allergén potenciáljának jellemzésére is [8].

2.4. Az *in vitro* emésztési modellek jellemzése, csoportosítása

A kísérletek tervezése során a vizsgálati célnak megfelelő *in vitro* modellt kell kiválasztani, akár 1-1 emésztési fázis modellezése is indokolt lehet. A módszer kiválasztását segíti, ha figyelembe vesszük, hogy az adott emésztési modellt korábban milyen mintákra validálták. Emésztési modellek (1. táblázat) legnagyobb része statikus (~89%), de a modellek lehetnek dinamikusak, illetve szemi-dinamikusak is [24].

A **statikus modellezésnél** a fizikai folyamatok (rágás, nyírás, keverés, hidratáció, változó paraméterek: pl. idő) csak korlátozottan imitálhatók. A dinamikus modellel ellentétben gasztrointesztinális traktus komplexitása statikusan nem modellezhető.

A **dinamikus modellek** hatékonyabban alkalmazhatók az élettani vizsgálatok során, mint a statikusak [23]. Sokkal összetettebbek, a működtetésükhöz nagy mennyiségű minta szükséges [18]. Alkalmazásuk korlátozott, mivel a használatuk több költséget, munkát és időt igényel, mint a statikus modelleké [18, 23].

Az emésztés dinamikus folyamat, a gyomor-bélrendszerbe kerülő élelmiszer változó sebességgel halad annak szerkezetétől, reológiai és egyéb tulajdonságaitól függően, és a fizikai-kémiai körülmények (változó pH, ionerősség, emésztőenzim koncentrációk) szintén befolyásolják a hatékonyságát. Ezeket a folyamatbeli változásokat a dinamikus modellek figyelembe veszik.

Dinamikus modellekkel a reakcióidőtől függő folyamatok (pl. a biológiai hozzáférhetőség változása az élelem-mátrix függvényében, a tápanyagok kölcsönhatása) vizsgálata is lehetséges, annak köszönhetően, hogy az emésztés folyamán végbemenő biokémiai reakciók kinetikájának pontosabb modellezésére képesek, mivel a modellek rekeszeiből (melyek a gasztrointesztinális traktus különböző szakaszait

imitálják) az emésztmény áthaladása során mintákat lehet venni.

A **szemi-dinamikus emésztési protokollok** az egyszerű statikus modellek és a bonyolultabb, költségeesebb dinamikus rendszerek közötti kompromisszumot képviselik [8]. Ezek esetén a gyomor-szakaszt dinamikusan modellezik, amelyet egy statikusan modellezett vékonybél fázissal vonnak össze [8].

2.4.1. Elterjedt dinamikus *in vitro* humán emésztési modellek rövid jellemzése

A gyakorlatban több dinamikus *in vitro* emésztési modell látott napvilágot, amelyek közül néhány legfontosabbat az **1. táblázatban** foglaltunk össze. Ezek az automatizált rendszerek egy, vagy több egységből állnak, amelyek külön, csak a gyomrot, vagy a gyomor-vékonybél és a gyomor-vékonybél-vastagbél

1. táblázat. Elterjedt dinamikus *in vitro* humán emésztési modellek
Table 1. Widely used dynamic *in vitro* human digestion models

Modellezett emésztőrendszeri szakasz <i>Modeled section of the gastrointestinal tract</i>	Modellnév* Model name*	Emésztési szakaszokat reprezentáló egységek felépítése (száma) <i>Structure (number) of units representing digestive stages</i>	Referencia <i>Reference</i>
Gyomor / <i>Stomach</i>	DGM	Gyomor fundus –gyomortest, antrum (2 db egység) <i>Stomach fundus – stomach body, antrum (2 units)</i>	[11, 28]
	HGS	Teljes gyomor (1 db egység) <i>Complete stomach (1 unit)</i>	[11, 29]
Gyomor-vékonybél <i>Stomach-small intestine</i>	DIDGI	Teljes gyomor, duodenum, jejunum, ileum (4 db egység) <i>Complete stomach, duodenum, jejunum, ileum (4 units)</i>	[11, 30, 31]
	ESIN	Élelemtároló, nyálampulla, teljes gyomor, duodenum, jejunum, ileum (6 db. egység) <i>Food storage, saliva ampoule, complete stomach, duodenum, jejunum, ileum (6 units)</i>	[32, 33]
Gyomor-vékonybél-vastagbél <i>Stomach-small intestine-large intestine</i>	TIM-1 + TIM-2	Teljes gyomor, duodenum, jejunum, ileum (4 db egység) + vastagbél (csak proximális szakasz vagy felszálló-, haránt-, disztális vastagbél szakasz) (4 db egység) <i>Complete stomach, duodenum, jejunum, ileum (4 units) + colon (only proximal section or ascending, transverse and distal colon sections) (4 units)</i>	[11, 26, 34, 35]
	L-SHIME	Teljes gyomor, teljes vékonybél, felszálló-, haránt-, leszálló vastagbél szakasz (5 db egység) <i>Complete stomach, complete small intestine, ascending, transverse, descending colon sections (5 units)</i>	[11, 36]
	SIMGI	Teljes gyomor, teljes vékonybél, felszálló-, haránt-, leszálló vastagbél szakasz (5 db egység) <i>Complete stomach, complete small intestine, ascending, transverse, descending colon sections (5 units)</i>	[33, 37]
Vastagbél / <i>Large intestine</i>	ARCOL	Teljes vastagbél (1 db egység) <i>Complete large intestine (1 unit)</i>	[33, 38]
	GIBSON	Felszálló-, haránt-, disztális vastagbél szakasz (3 db egység) <i>Ascending, transverse and distal colon sections (3 units)</i>	[39, 40, 41]

* Rövidítések / *Abbreviations*:

DGM: Dynamic Gastric Model (Angol/*British*)

HGS: Human Gastric Simulator (Riddet Model) (Egyesült Államok/*USA*)

DIDGI: Digestion Dynamique Gastro-Intestinale model (Francia/*French*)

ESIN: Engineered Stomach and small Intestinal model (Francia/*French*)

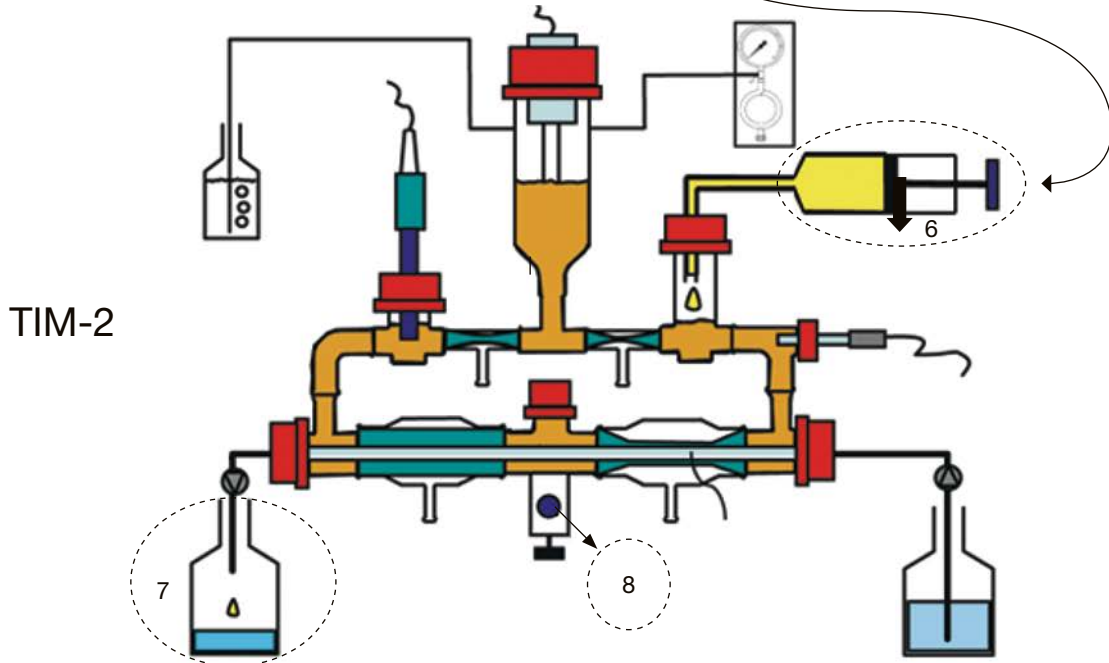
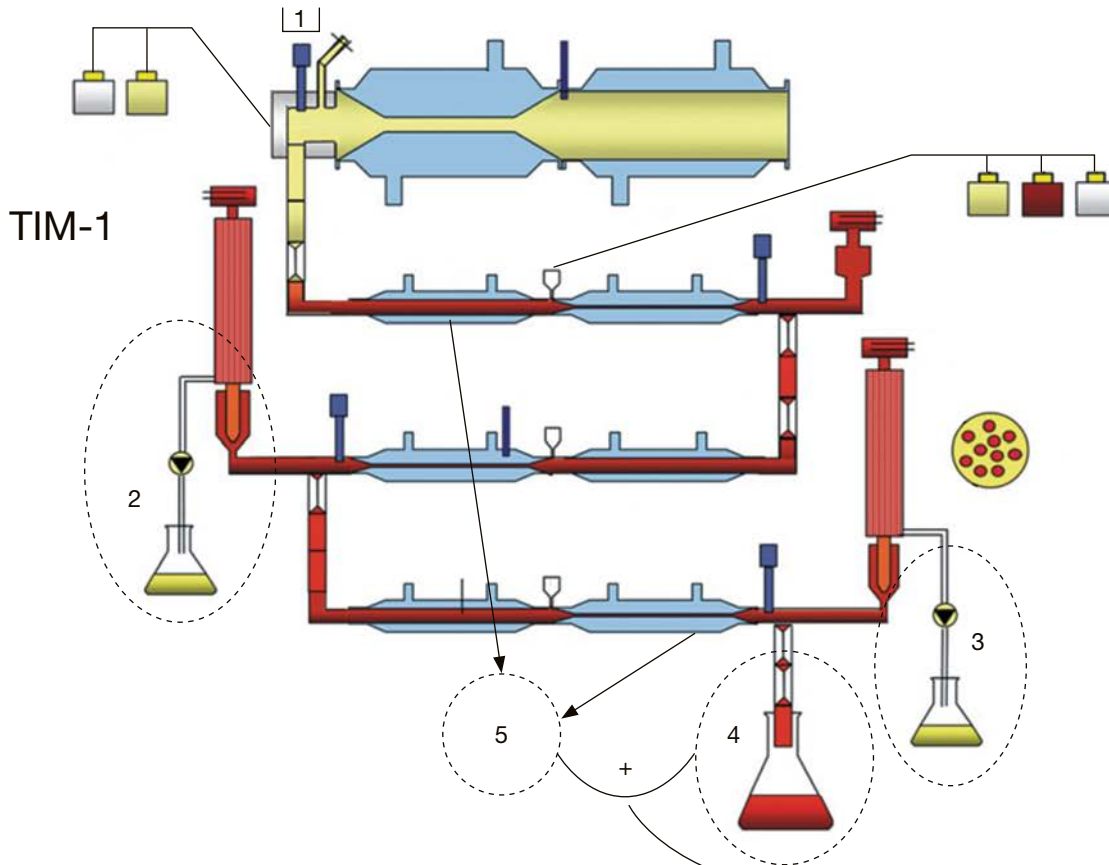
TIM: TNO *in vitro* (gastro-) Intestinal Models (Holland/*Dutch*)

SHIME: Simulator of Human Intestinal Microbial Ecosystem (Belga/*Belgian*)

SIMGI: SIMulator of the GastroIntestinal tract model (Spanyol/*Spanish*)

Gibson: Gibson és Macfarlane kutatócsoportja által kidolgozott rendszer (*Macfarlane/Gibson három-stádiumú folyamatos kultúra rendszer*) (Angol)
System developed by the research group of Gibson and Macfarlane (Macfarlane/Gibson three-stage continuous culture system) (*British*)

ARCOL: ARTificial COLon (Francia/*French*)



2. ábra első része: TIM-1 modell
2. ábra első része: TIM-1 modell

2. ábra második része: TIM-2 model
2. ábra második része: TIM-2 model

1. Élelem = TIM-1 bemenete / Food input of TIM-1
2. Dializált minta az éhbélből / Dialysed sample from jejunum
3. Dializált minta a csipőbélből / Dialysed sample from ileum
4. A csipőbélből távozó minta / Sample output from the ileum
5. A kompartmentumokban maradó üledék az emésztés végén
Sediment remaining in the compartments at the end of digestion
6. A 4. és 5. számmal jelzett minták egyesítése = TIM-2 bemenete / Merging of samples no. 4 and no. 5 = TIM-2 input
7. Dializált minta a TIM-2-ből / Dialysed sample from TIM-2
8. Luminális minta a TIM-2-ből / Luminal sample from TIM-2

2. ábra. TIM-1 és TIM-2 modellek
Figure 2. TIM-1 and TIM-2 models

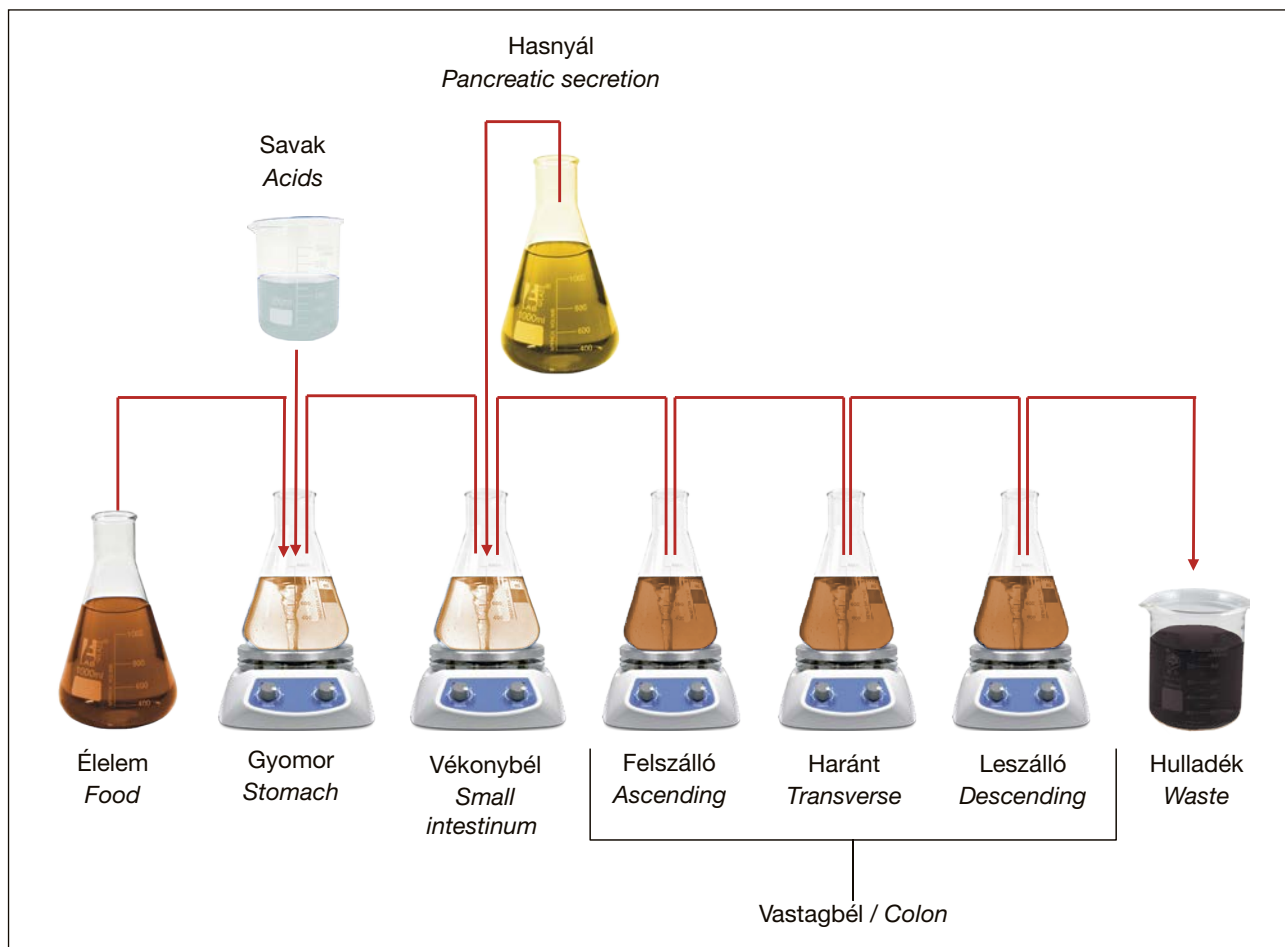
szakaszokat egyaránt modellezhetik. A rendszerek felépítése különböző, amit itt két komplettebb (az emésztés és a fermentáció folyamatain keresztül bemutatott) modellel szemléltetünk (2., 3. ábra).

A szimulált dinamikus humán emésztési modellek úttörőjének számítanak a TNO (Nederlandse Organisatie voor Toegepast Natuurwetenschappelijk Onderzoek, Alkalmazott Tudományos Kutatás Hollandiai Szervezete) által kifejlesztett TIM emésztési modellek (TNO (gastro-) Intestinal Models) (2. ábra), amelyeket széles körben validáltak az élelmiszerek emészthetőségének, a tápanyagok biológiai hozzáférhetőségének, valamint a funkcionális összetevők sorsának és hatékonyságának a tanulmányozásában [25]. A TIM-1 egy gyomor-vékonybél modell, a TIM-2 pedig a vastagbél modellezi. A TIM-1 egyszerűbb változata a tiny-TIM rendszer, mely a vékonybél csak egy egységgel imitálja, ami nagyobb átteresztőképességet tesz lehetővé [26]. Bár a TIM-1 rendszer gasztrikus kompartmentuma megfelel számos *in vitro* emésztést alkalmazó kísérlet követelményeinek, amit a tápanyagok, bioaktív összetevők és gyógyszerek biológiai hozzáférhetőségére vonatkozó eredmények támasztanak alá, bizonyos sajátos kérdések (ezek kapcsolódhatnak például az élelem és a gyomor viselkedése közötti kölcsönhatáshoz) megválaszolására, egy fejlettebb gyomor modellt kellett kifejleszteni [27]. A TIMagc rendszer (TIM advan-

ced gastric compartment), a TIM modell gasztrikus szakaszához képest egy fejlettebb gyomor modell, 3 kompartmentumból áll, ezek a gyomortestet (*corpus ventriculi*), valamint a gyomortestet követő vízszintes szakasz (*antrum*) proximális és a disztális részeit utánozzák [27].

A SHIME-modell (Simulator of Human Intestinal Microbial Ecosystem) 5 reaktort felölelő rendszer (gyomor-vékonybél, felszálló-, haránt- és leszálló vastagbél szakasz, 3. ábra), amely megtalálható a Ghenti (Belgium) és a Wageningeni Egyetemen [42, 43]. Egyik variánsa az M-SHIME (Mucus-SHIME), amely a nyálkahártya mikrobióta általi kolonizációját modellezi. A SHIME-modell alkalmazása az ún. HMI™ modulal (Host-Microbe Interaction Module) lehetővé teszi a mikrobiótának a gazdaszervezet sejtjeivel való interakciójának 48 órán át történő hosszú távú vizsgálatát [11, 33, 44].

A dinamikus modelleknél legtöbb esetben az élelmiszer konzisztenciájára (szilárd, folyadék)-vonatkozó differenciális gasztrikus ürítés (kivételek vannak pl.: TIM, SHIME), a dinamikus pH-profil, a kísérleti időtartam szabályozható, valamint a gyomorban a perisztaltikus mozgás is imitálható néhány esetben (TIM, HGS, DGM, SIMGI) imitálható. Bizonyos dinamikus modellek (pl. SHIME, TIM) esetén az ételmet drasztikus fizikai őrlésnek (ultra-turrax homogenizáló készülék)



3. ábra. SHIME-modell
Figure 3. SHIME model

lék, turmixgép stb.) kell alávetni az *in vitro* emésztés előtt, a rágás modellezése helyett, hogy elkerüljék a rendszer csöveinek az eltömődését [32, 33].

Ennek hátránya, hogy nem veszik figyelembe az élelmiszer szerkezetét, pedig az emésztmény viszkozitása és a részecskéinek a mérete a vizsgálandó komponensek emésztés során történő felszabadulását befolyásoló fontos jellemzők [8, 18, 33].

Néhány rendszerben (pl. ESIN, TIM, ARCOL, SHIME, DIDGI) a dialízis megvalósítására is törekedtek, hogy az emésztetlen, nem oldódó anyagokkal kolloidális diszperziókat képző vízben oldódó komponensek a rendszerből eltávolíthatók legyenek [45]. A vastagbél modelleknél (TIM-2, ARCOL, SHIME) pl. fontos eltávolítani a mikrobiális metabolitokat, mert azok gátolhatják a baktériumok növekedését és/vagy a további fermentációt. A TIM-1, ESIN és DIDGI esetén az enzimek reakciótermékek általi negatív visszacsatolós gátlását akadályozzák meg a dialízis révén. A dialízis hatással van emésztmény összetételére is, ezáltal befolyásolhatja a viszkozitást és a pH-t.

Bizonyos dinamikus modellrendszereket az adott célcsoport életkorának (pl. felnőtt, csecsemő: pl. TIM-1, tiny-TIM, DIDGI, SHIME) és egészségi állapotának (egészséges, beteg, elhízott, gyulladós bélbetegségben szenvedő: (pl. TIM-1, TIMagc, DGM, SHIME) megfelelő emésztőrendszerek szimulálására lehet beállítani. A vastagbelet szimuláló egységeket a TIM-2, SIMGI, ARCOL, Gibson, SHIME modelleknél általában széklet inokulummal oltják be [11, 33, 40]. Az ESIN esetén a vékonybelet reprezentáló rendszeregyeségek lehetővé tették, hogy a humán széklet mintával való beoltás és annak anaerob körülmények közötti fenntartása lehetséges legyen [33]. Az ARCOL-modell az első olyan fermentációs modell, mely a fermentor belsejében anaerobiózist tart fenn, mindössze a mikrobióta metabolikus aktivitása révén, anélkül, hogy azt N_2 -nel vagy CO_2 -dal öblítsék át, mint a legtöbb, a vastagbelet szimuláló *in vitro* modell esetén. Az *in vitro* bél-fermentációs rendszerek hátránya azonban az, hogy nem képesek a gazdaszervezet hatásának (pl. felszívódás, gazdaszervezet mikrobióta kölcsönhatás) kellően valóságos modellezésére, kivéve, ha a rendszert *in vitro* bél sejtvonal modellekkel kombinálják (pl. Caco-2 humán vastagbélrák epitelsejtek) [33, 46].

2.5. A NAIK ÉKI-ben alkalmazott – különböző európai országok által javasolt közös egyezményen alapuló - szimulált humán *in vitro* emésztési modell részletes bemutatása

2011-ben indult el az ún. COST INFOGEST FA1005 Akció (2011-2014) *European Cooperation in Science and Technology: Improving health properties of food by sharing our knowledge on the digestive process, Project No. Food & Agricultural 1005* címmel, amelynek feladata vezető európai intézetekből álló hálózat felépítése volt, közös célja pedig az élelmiszerek

emésztése, a tápcsatornában történő lebomlási folyamatok teljeskörű megismerése. A hálózat tagjai különböző szakmai háttérrel rendelkező kutatók, úgymint élelmiszermérnökök, gasztroenterológusok, táplálkozástudományi szakemberek, immunológusok, élelmiszeripari szakemberek voltak, így a téma több szemszögből is megközelíthetővé vált. A COST Infogest Akció magyar tagjait intézetünk munkatársai képviselték (Dr. Gelencsér Éva, Dr. Takács Krisztina, Némethné Dr. Szerdahelyi Emőke, Dr. Nagy András). A projekt fő célkitűzése elsősorban a nyersanyagok és a feldolgozott élelmiszerek jellemzése volt a kedvezőbb tápanyag hasznosulás szempontjából, valamint annak felmérése, hogy a hasznos élelmiszer komponensek előfordulása és stabilitása a gasztrointesztinális traktusban milyen módon változik a feldolgozás módjától és élelmiszer mátrix jellegétől függően. Ezenkívül az *in vitro*, *in vivo*, *in silico* emésztési modellek felállítása, azok összehasonlítása, és az egészségre vonatkozó hatások (pl. allergia) vizsgálata volt a feladat.

A projektben kitűzött célok érdekében – a humán emésztésen alapuló naprakész szaktudás birtokában – az *in vitro* és *in vivo* mérések közötti összefüggések feltárásához szükség volt a publikált *in vitro* emésztési modellek összehangolására és szabványosítására [11, 47]. A különböző modellrendszerek eltérő körülményeket alkalmaztak, ami lehetetlenné tette a különböző emésztési vizsgálatokkal kapott eredmények összehasonlítását, így ellentmondásos következtetésekhez vezethetett [23, 24].

Erre jelent megoldást a számos *in vitro* emésztési protokoll összefésült változatai alapján standardizált ún. INFOGEST *in vitro* humán emésztési modell [23, 45], amely egészséges felnőttek emésztését a száj-gyomor-vékonybél fázisokon keresztül modellezi [48].

A harmonizált protokollban figyelembe vették az eddig alkalmazott emésztési modelleknél tapasztalt előnyöket és hátrányokat a valós körülmények lehető legjobb megközelítése érdekében (4. ábra).

A kialakított INFOGEST modellnél számításba vették többek között azt is, hogy a különböző cégektől vásárolt, ill. különböző sarzsokból rendelkezésre álló enzimek aktivitása eltérő lehet, ezáltal az enzimes bontással kapott eredmények is eltérőek (amit a körvizsgálati eredmények is bizonyítottak). Újdonság a protokollban, hogy élettanilag megfelelő körülmények között, megadott aktivitással történik az enzimes bontás. A vizsgálathoz szükséges enzimmennyiség a szabványos aktivitás mérésekkel meghatározható, ezáltal javította a reprodukálhatóságot, és az eredmények összehasonlíthatóságát [50].

Figyelembe vették azt is, hogy az eltérő pH, ásványi anyagtartalom, ionerősség, emésztési idő, és enzim befolyásolja a mért enzimaktivitást, így az eredményekben különbségeket okozhat. Egyéb paraméte-

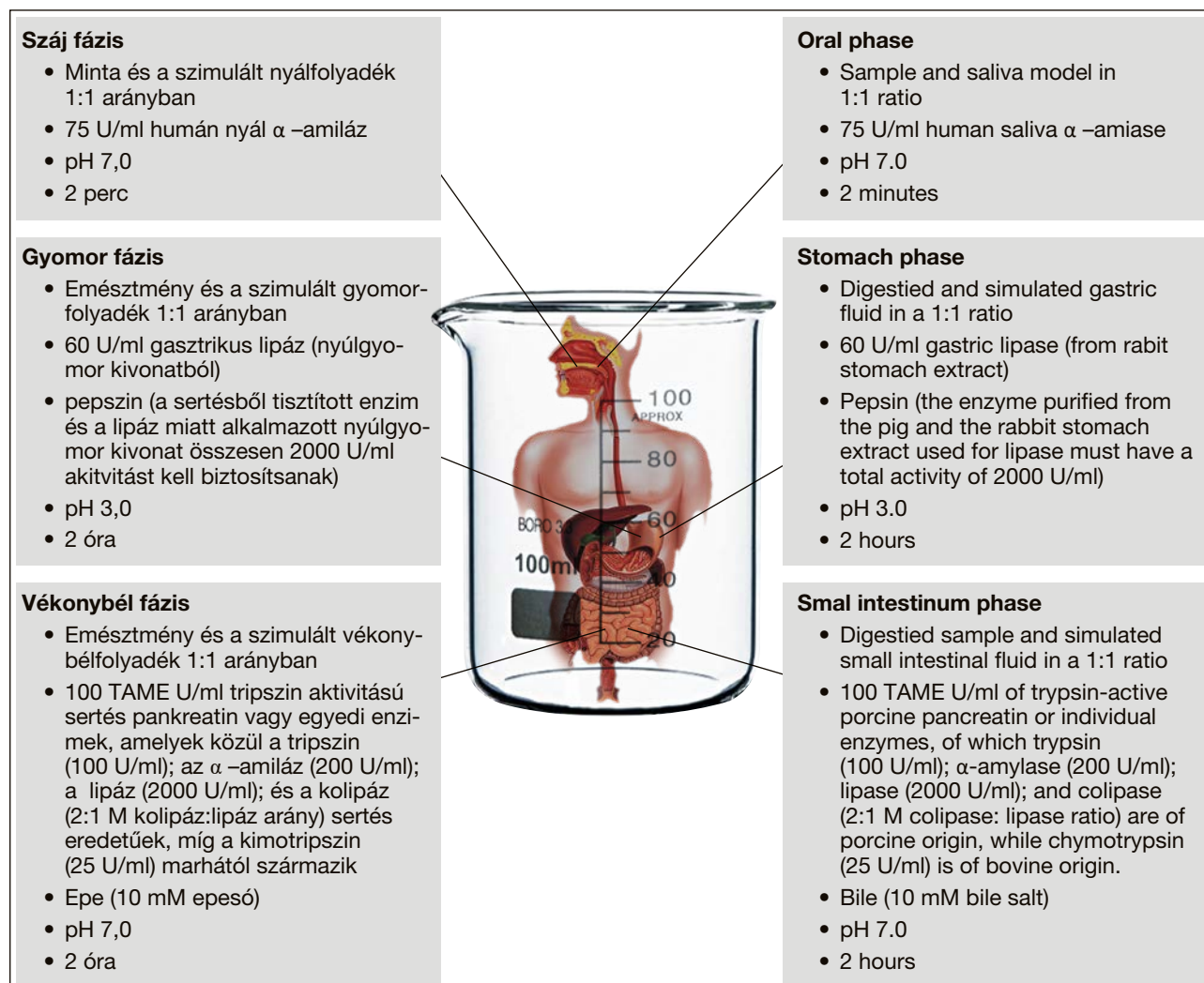
rek hatását is vizsgálták, pl. a foszfolipidek, egyedi enzimek (gyomor lipáz) és emulgálószer, illetve ezek keverékei (pl. pankreatin, epe-sók) mennyisége/jelenléte, valamint az élelmiszer/emésztőnedv arány is, és ezen említett paraméterek standardizálása is megtörtént.

A gyakorlatban való megvalósítás során a szájban 2 perces, gyomorban 2 órás és vékonybélben is 2 órás 37 °C-on zajló reakcióidőt javasoltak. A megfelelő fiziológias körülményeket nestereséges emésztőnedvek garantálják, amelyek összetétele elektrolit törzsoldatból, enzimekből, CaCl₂-ből és vízből áll. A szimulált nyálfoladék pH-ja 7,0, a szimulált gyomorfoladék pH-ja 3,0 és a szimulált vékonybélfoladék pH-ja 7,0. A szimulált emésztőnedvek minden emésztési fázisnál állandó arányban (50:50 v/v) kerülnek a száj/gyomor/vékonybél tartalmához; az emésztőenzimek aktivitása valamint a vékonybél-folyadékban használt epe kivonat koncentrációja (10 mM) a feltételezett fiziológias körülményeknek megfelelően szintén standardizált (pl. alfa-amiláz 75 U/ml, pepszin 2000 U/ml, pankreatin 100 TAME U/ml). A vékonybél fázis során a pankreatin mennyiségét általában a tripszin aktivitása határozza meg [45]. Ha a célkitűzések alapján a lipid vagy szénhidrát emésztés vizsgálatnak nagyobb

a jelentősége, vagy az enzim aktivitást pontosan kell szabályozni, a pankreatin helyett lehet egyedi enzimeket is (tripszin, kimotripszin, α-amiláz, lipáz és kolipáz) alkalmazni [18, 23, 45]. Az egyedi enzimek alkalmazásának hátránya az, hogy a protokoll kivitelezése során kimaradnak az olyan pankreatikus proteázok, mint az elasztáz és a karboxipeptidáz [51], amelyeknek meghatározó szerepe lehet bizonyos bioaktív peptidek vizsgálata esetén [19].

Azt figyelembe kell vennünk, hogy az INFOGEST protokoll a kefeszegély membrán hidrolázok általi lebontási folyamatot nem modellezi [48]. Ennek oka, hogy ezen enzimek kereskedelmi forgalomban nem kaphatók és működésükről sem rendelkezünk elegendő ismerettel [8, 23]. Napjainkban azonban olyan tanulmányok láttak napvilágot, amelyek az INFOGEST protokoll által előírt lépéseken kívül sertés jejunum kefeszegély enzimeket alkalmaztak [48, 52, 53]. Egyes kutatócsoportok a kefeszegély glikozidázokat gomba amiloglükozidázzal helyettesítették [54, 56].

Az INFOGEST módszer hiányosságaira a különböző élelmiszer komponensek vizsgálata során derül fény. Szükség van pl. többek között a lipofil összetevők



4. ábra. INFOGEST in vitro humán emésztési protokoll [23, 45]; (rajz: [49])
Figure 4. INFOGEST in vitro human digestion protocol [23, 45]; (sketch: [49])

(pl. karotinoidok, növényi szterolok) esetében olyan módszerfejlesztésre, amely biztosítja a micellákba ágyazott lipofil komponensek kivonását, hiszen a sejtek valójában a lipofil komponenseket micellákba rendeződve veszik fel. Így sorsuk nyomonkövethetővé, mennyiségük megbízhatóan mérhetővé válik [13, 24, 57]. Egyelőre a micellák kialakulását befolyásoló tényezők (epesók, lipáz, lipidek, emésztmény keverésének intenzitása) hatásáról kevés ismeretünk van, a standardizálásra egyelőre nincs lehetőség [19, 23].

A vékonybélszakasz modellezése során a fény és/vagy az oxigén jelenléte hatással lehet a mintában található fitokemikáliára (pl. karotinoidok, polifenolok) és a mikrotápanyagokra (pl. vas ionok) [18, 23, 58]. A fitokemikália bioaktivációjában, metabolizmusában a bél mikrobiótának is szerepe van [18, 23]. A gasztrointesztinális baktériumok például a higany kémiai kötési formáját (a veszélyesebb metil higany előfordulását) és a biológiai hozzáférhetőségét is befolyásolják [59, 60]. A fény, oxigén és mikrobióta hatásának az alaposabb megértése elősegítheti az *in vitro*- *in vivo* korrelációk megállapítását, valamint a standardizálást az olyan specifikus vizsgálatok esetére, amiket ezek a tényezők befolyásolhatnak [23].

A biológiai hozzáférhetőség mérése, predikációs vizsgálatok során az INFOGEST modell alapján javasolt a különböző összetevők elválasztása az emésztetlen frakciótól, amit oldhatóság (centrifugálás és/vagy szűrés) vagy dializálhatósági vizsgálatokkal lehet megvalósítani [19, 23, 45]. A dialízis beépítése egy *in vitro* emésztési modellbe nemcsak a biológiai hozzáférhetőség mérése miatt lenne fontos, hanem egyrészt azért is mert így nem halmozódnak fel azok a termékek, melyek az emésztőenzimeket gátolhatják [18], másrészt pedig szükségessé válik, ha az emésztményt sejtkultúra alapú [61] vagy mikrobiológiai [62] vizsgálatokhoz szeretnénk felhasználni. Az *in vitro* emésztési modellekben alkalmazott dialízis paraméterei nagyon változatosak, szükség lenne ennek standardizálása is.

3. Köszönetnyilvánítás

A publikáció a COST Action FA1005, valamint a „Tématerületi Kiválósági Program” TUDFO/51757-1/2019-ITM támogatásával készült.

Application of *in vitro* human digestion models in the field of nutrition science

Keywords: statikus, dinamikus, szemi-dinamikus emésztési modellek, TIM-1 és TIM-2 emésztési modell, SHIME-modell (Simulator of Human Intestinal Microbial Ecosystem), INFOGEST *in vitro* humán emésztési protokoll;

1. SUMMARY

Simulating digestion that takes place in the gastrointestinal tract is a widely used procedure in various fields of food and nutrition science, as well as in the pharmaceutical industry, as it is less costly and labor-intensive in human clinical trials and animal experiments, while not raising ethical issues either. The process of digestion converts nutrients and bioactive compounds in foods into physiologically active compounds. *In vitro* digestion models have been proved to be effective tools for the complete understanding and observation of the complex transformation processes that occur during digestion. Of course, *in vitro* studies cannot be substitutes for *in vivo* experiments, but they play a key role in the pre-screening, ranking and classification of samples before *in vivo* studies. In this article, we show why *in vitro* digestion models are important, how and in what systems they can be used. Several *in vitro* digestion models have been developed in static, dynamic and semidynamic forms. In this summary, we present the unified static model developed within the framework of the COST INFOGEST program, a unified, convention-based protocol for *in vitro* digestion of food samples prepared with the involvement of more than 200 researchers from 32 countries. The application of the unified model allowed the comparison of the results of different research groups.

2. Introduction and literature review

2.1. Digestion and absorption in a nutshell

During neurohormonally regulated [1] digestion, food is broken down by a specific series of mechanical and biochemical processes (Figure 1.). Nutrients, which are bodybuilding substances and energy sources made up from macromolecules (proteins, lipids, carbohydrates), as well as vitamins, minerals and trace elements enter the blood and lymphatic circulation through the intestinal barrier through the process of absorption [2].

Digestion begins in the mouth and then continues in the spaces of the gastrointestinal tract (stomach, duodenum, jejunum). 90% of the nutrients is absorbed in the small intestine (*jejunum*, *ileum*) and the rest is absorbed in the stomach (*ventriculus*,

gaster) and the large intestine (*colon*). Absorption is aided by the circular folds of the small intestine mucosa and the submucosal layer, as well as the intestinal villi, protrusions of the absorbing epithelial cells (*microvilli*, brush border). The most important supporters of luminal digestion are enzymes found in fluids secreted by the gastrointestinal glands, which are catalysts for the degradation of macromolecules, as well as brush border enzymes in the plasma membrane of microvilli. Moving toward the small intestine, the small intestinal fluid, mixed with the pancreatic juice, neutralizes the acidic chyme (stomach content) coming from the stomach, which is needed for the further hydrolysis and absorption of nutrients.

Bile secretions released into the small intestine promote hydrolysis by pancreatic lipase through the emulsification of fats. Bile acids also play an

¹ National Agricultural Research and Innovation Centre, Food Research Institute

important role in absorption by solubilizing digestion products in the form of micelles [3].

2.2. Importance of *in vitro* digestion models

Digestion is a complex system of biochemical processes whose physiological conditions are very difficult to reproduce accurately. The most accurate answers to questions related to nutrition can be obtained from human studies, yet simulated *in vitro* gastrointestinal digestion is widely used in food and nutrition science, as the study of *in vivo* digestion of foods (clinical trials, animal experiments) is resource-intensive and often ethically questionable [7, 8]. On the other hand, the physiological processes of animal models do not always correspond to the physiological processes taking place in the human body [9], and the interpretation of the results and the reproducibility of the experiments may be hampered by the large differences between the individuals participating in the experiments [10, 11].

The advantages of *in vitro* methods over *in vivo* studies are that they are cost-effective, less labor-intensive, have no ethical constraints, they are faster, easier to manage, less risky and involve less responsibility [11, 12]. They focus only on the mechanism under study, provide controlled conditions and easy sampling possibilities, can be used for parallel measurements of a large number of samples for screening purposes. Tests can be reproduced easily by checking and standardizing experimental parameters [11]. They include the oral, gastric and small intestinal phases and, occasionally, the fermentation section of the colon. *In vitro* methods attempt to realistically mimic *in vivo* physiological conditions, enzymatic and microbiological digestion processes through the gastrointestinal tract, taking into account the presence and concentrations of digestive enzymes, pH, digestion time, as well as salt concentration. *In vitro* studies are not substitutes for *in vivo* experiments, but can be considered as a tool to facilitate the pre-screening, ranking and classification of a large number of samples [13]. Thus, with the help of pre-screening for animal feeding experiments, fewer experimental animals are needed, and in the case of experiments performed on human cells and microbiota (colon model) the absorption and the release of different metabolites can be modeled.

2.3. Applicability of *in vitro* digestion models

In the case of foods, the sum of the nutritional values of each component does not provide a complete picture of the true nutritional value available to the body. *In vitro* digestion provides an opportunity to test the amount of components released from the food matrix during its passage through the gastrointestinal tract using analytical methods, i.e., the bioactivity and bioaccessibility of the food, as

well as the bioavailability to the body at the site of absorption [11].

Using these models, we seek to answer the question whether these degraded components retain their biological activity, and if so, how this bioactive form is utilized: is it absorbed or can it be utilized in an active form.

In practice, following *in vitro* digestion, the digested material is centrifuged and/or filtered because of the presence of undigested constituents that form a colloidal dispersion (ultrafiltration), it is dialyzed and the amount of bioavailable components in the resulting supernatant is determined. However, the use of dialysis and the measurement of solubility (through centrifugation and/or filtration) can lead to different bioavailability values even for the same sample [14, 15]. Nor can it be generalized that higher values are obtained by dialysis or by measuring solubility [14, 16, 17]. It should also be taken into account that not all soluble or dialyzable components are absorbed by the body, but components that are not part of the bioavailable fraction under real conditions can also diffuse through the semipermeable membrane [11, 18, 19].

Knowledge of bioavailability can be important in food development when selecting the right processing technology. Other production technologies may be more advantageous if they are selected on the basis of the bioavailability of the given food component and rather than the degree of degradation [20]. Studies are useful in comparing the effects of food processing, as well as in ranking different protein sources, and also in examining factors that potentially affect digestion [19]. *In vitro* studies can also be used to estimate the glycemic effect of foods [19, 21, 22], to assess the safety of genetically modified products [11, 23], or to characterize the allergenic potential of proteins [8].

2.4. Characterization and grouping of *in vitro* digestion models

During the design of the experiments, an *in vitro* model appropriate for the purpose of the study should be selected, even the modeling of individual digestion phases may be warranted. Method selection is aided by considering the types of samples the given digestion model have been previously validated for. The majority (~89%) of digestion models (Table 1) are static, but models can also be dynamic or semi-dynamic [24].

In **static modeling**, physical processes (chewing, shearing, mixing, hydration, variable parameters, such as time) can only be imitated to a limited extent. In contrast to the dynamic model, the complexity of the gastrointestinal tract cannot be modeled statically.

Dynamic models can be applied more efficiently in physiological studies than static ones [23]. They are much more complex and their operation requires a large amount of samples [18]. Their application is limited because their use requires more money, labor and time than static models [18, 23].

Digestion is a dynamic process, with food that enters the gastrointestinal tract moving at varying rates depending on its structure, rheology and other properties, while physicochemical conditions (varying pH, ionic strength, digestive enzyme concentrations) also affecting its efficiency. These process changes are taken into account by dynamic models.

Dynamic models can also be used to study processes that depend on the reaction time (e.g., changes in bioavailability as a function of the food matrix, nutrient interactions) due to their ability to more accurately model the kinetics of the biochemical reactions taking place during digestion, since samples can be taken from the compartments of the models (which mimic the different sections of the gastrointestinal tract) as the digested material passes through them.

Semi-dynamic digestion protocols represent a trade-off between simple static models and more complex, more costly dynamic systems [8]. In these cases, the gastric section is modeled dynamically, which is combined with a statically modeled small intestinal phase [8].

2.4.1. Brief characterization of widely used dynamic *in vitro* human digestion models

In practice, several dynamic *in vitro* digestion models have emerged, some of the most important of which are summarized in **Table 1**. These automated systems consist of one or more units that can model the stomach alone, the stomach-small intestine tract or the stomach-small intestine-large intestine tract. The structures of the systems are different, which is illustrated here by two more complex models (presented through the processes of digestion and fermentation) (**Figures 2 and 3**).

The pioneers of simulated dynamic human digestion models are the TIM digestion models (TNO (gastro-) Intestinal Models) developed by the TNO (Nederlandse Organisatie voor Toegepast Natuurwetenschappelijk Onderzoek) (**Figure 2**), which have been widely validated in the study of food digestibility, nutrient bioavailability, as well as the fate and efficacy of functional ingredients [25]. TIM-1 is a stomach-small intestine model, while TIM-2 models the colon. A simpler version of TIM-1 is the tiny-TIM system, which mimics the small intestine with only one unit, allowing for higher throughput [26]. Although the gastric compartment of the TIM-1 system meets the requirements of many *in vitro* digestion experiments, supported by the bioavailability results of nutrients, bioactive components and drugs, to answer certain

specific questions (which may be related to the interaction between food and gastric behavior), a more advanced stomach model have to be developed [27]. The TIMagc (TIM advanced gastric compartment) system, a more advanced gastric model compared to the gastric section of the TIM model, consists of 3 compartments that mimic the *corpus ventriculi*, and the proximal and distal parts of the horizontal section following the stomach body (*antrum*) [27].

The SHIME model (Simulator of Human Intestinal Microbial Ecosystem) is a system comprising 5 reactors (stomach-small intestine, ascending, transverse and descending colon sections, **Figure 3**), available at the Universities of Ghent (Belgium) and Wageningen (the Netherlands) [42, 43]. One variant is M-SHIME (Mucus-SHIME), which models the microbial colonization of the mucosa by the microbiota. Application of the SHIME model with the so-called HMI™ module (**Host-Microbe Interaction Module**) allows the long-term study of the interaction of the microbiota with host cells over 48 hours [11, 33, 44].

In dynamic models, in most cases, differential gastric emptying (with the exception of, for example, TIM, SHIME) for various food consistencies (solid, liquid), dynamic pH profile and experimental duration can be controlled, and the peristaltic movement in the stomach can be mimicked in some cases (TIM, HGS, DGM, SIMGI). For some dynamic models (e.g., SHIME, TIM), food must be subjected to drastic physical grinding (ultra-turrax homogenizer, blender, etc.) before *in vitro* digestion, instead of the modeling of chewing, to avoid the clogging of the tubes of the system [32, 33]. The disadvantage of this is that the structure of the food is not taken into account, although the viscosity and particle size of the digested material are important features that influence the release of the components to be tested during digestion [8, 18, 33].

In some systems (e.g., ESIN, TIM, ARCOL, SHIME, DIDGI), dialysis has also been attempted to remove from the system water-soluble components that form colloidal dispersions with undigested, insoluble materials [45]. In the case of colon models (TIM-2, ARCOL, SHIME), for example, it is important to remove microbial metabolites, as they may inhibit the growth and/or further fermentation of bacteria. For TIM-1, ESIN and DIDGI, negative feedback inhibition of enzymes by reaction products is prevented by dialysis. Dialysis also affects the composition of the digested material, thereby affecting viscosity and pH.

Certain dynamic model systems can be adjusted to simulate digestive systems corresponding to that of the age (e.g., adult, infant: e.g., TIM-1, tiny-TIM, DIDGI, SHIME) and health status (healthy, sick, obese, suffering from IBS: e.g., TIM-1, TIMagc, DGM, SHIME) of the given target group. Colon simulating units in the TIM-2, SIMGI, ARCOL, Gibson, SHIME

models are usually inoculated with fecal inoculum [11, 33, 40]. In the case of ESIN, system units representing the small intestine made inoculation with a sample of human feces and its maintenance under anaerobic conditions possible [33]. The ARCOL model is the first fermentation model that maintains anaerobiosis inside the fermenter through the metabolic activity of the microbiota, without having to flush it with N₂ or CO₂, as in most *in vitro* models simulating the colon. However, the disadvantage of *in vitro* intestinal fermentation systems is that they are not capable of sufficiently realistic modeling of host effects (e.g., absorption, host microbiota interactions) unless the system is combined with *in vitro* intestinal cell line models (e.g., Caco-2 human colon cancer epithelial cells) [33, 46].

2.5. Detailed presentation of the simulated human *in vitro* digestion model used in NAIK ÉKI, based on the common agreement proposed by different European countries

In 2011, the so-called COST INFOGEST FA1005 Action (2011-2014) titled *European Cooperation in Science and Technology: Improving health properties of food by sharing our knowledge on the digestive process, Project No. Food & Agricultural 1005* was launched, whose task was to build a network of leading European institutes, with the common goal to fully understand the digestion of foods and the degradation processes that take place in the gastrointestinal tract. Members of the network included researchers with different professional backgrounds, such as food engineers, gastroenterologists, nutrition science experts, immunologists and food professionals, so the topic could be approached from several perspectives. The Hungarian scientific community was represented in the COST Infogest Action by staff members of our institute (Dr. Éva Gelencsér, Dr. Krisztina Takács, Emőke Némethné Dr. Szerdahelyi, Dr. András Nagy). The main objective of the project was to characterize raw materials and processed foods for better nutrient utilization, and to assess how the occurrence and stability of beneficial food components in the gastrointestinal tract varies depending on the processing method and the nature of the food matrix. In addition, the task included the establishment of *in vitro*, *in vivo*, *in silico* digestion models, their comparison, and the study of health effects (e.g., allergies).

In order to achieve the objectives of the project, and in the possession of up-to-date expertise regarding human digestion, to explore the relationship between *in vitro* and *in vivo* measurements, it was necessary to harmonize and standardize published *in vitro* digestion models [11, 47]. Different model systems used different conditions, which made it impossible to compare the results obtained in different digestion studies, and this could lead to contradictory conclusions [23, 24].

A solution to this is presented by the so-called INFOGEST *in vitro* human digestion model standardized on the basis of the combined versions of several *in vitro* digestion protocols [23, 45], which models the digestion of healthy adults through the oral-stomach-small intestine phases [48].

The harmonized protocol takes into account the advantages and disadvantages of the digestion models used so far, in order to be able to approach real conditions as closely as possible (Figure 4).

The developed INFOGEST model took into account, among other things, the fact that the activity of enzymes purchased from different companies or available from different batches may be different, thus, the results obtained by enzymatic degradation may also differ (which was also proved by the results of proficiency tests). A novelty of the protocol is the enzymatic degradation takes place under physiologically appropriate conditions, with a given activity. The amount of enzyme required for the assay can be determined by standard activity measurements, thereby improving reproducibility and the comparability of the results [50].

It was also taken into account that different pH, mineral content, ionic strength, digestion time and enzyme affect the measured enzyme activity, which may cause differences in the results. The effect of other parameters was also investigated, such as the amount/presence of phospholipids, individual enzymes (stomach lipase) and emulsifiers, or mixtures of thereof (e.g., pancreatin, bile salts), as well as the food to digestive juices ratio, and these parameters were also standardized.

In practical application, reaction times of 2 minutes in the mouth, 2 hours in the stomach and also 2 hours in the small intestine has been recommended at 37 °C. Appropriate physiological conditions are ensured by artificial digestive juices consisting of an electrolyte stock solution, enzymes, CaCl₂ and water. The simulated saliva has a pH of 7.0, the simulated gastric fluid has a pH of 3.0 and the simulated small intestine fluid has a pH of 7.0. Simulated digestive juices are added to the mouth/stomach/small intestine contents in a constant ratio (50:50 v/v) during each digestion phase, and the activity of the digestive enzymes and the concentration of the bile extract used in the small intestinal fluid (10 mM) are also standardized according to the assumed physiological conditions (e.g., alpha-amylase 75 U/ml, pepsin 2000 U/ml, pancreatin 100 TAME U/ml). During the small intestine phase, the amount of pancreatin is usually determined by trypsin activity [45]. If, based on the objectives, lipid or carbohydrate digestion testing is of greater importance or enzyme activity needs to be regulated precisely, individual enzymes (trypsin, chymotrypsin, α-amylase, lipase and colipase) may be used instead of pancreatin [18, 23, 45]. The disadvantage of using individual enzymes

is that pancreatic proteases such as elastase and carboxypeptidase, which may play a key role in the study of certain bioactive peptides [19], are omitted during the implementation of the protocol [51].

It should be noted that the INFOGEST protocol does not model the degradation process by brush border membrane hydrolases [48]. The reason for this is that these enzymes are not commercially available and we do not have sufficient knowledge of their operation [8, 23]. Nowadays, however, studies have been published that used porcine jejunum brush border enzymes in addition to those steps required by the INFOGEST protocol [48, 52, 53]. Some research groups have replaced brush border glycosidases with fungal amyloglucosidases [54, 55, 56].

The shortcomings of the INFOGEST method are revealed during the analysis of the various food components. For example, it is necessary for lipophilic components (e.g., carotenoids, plant sterols), among other things, to perform method development that ensures the extraction of lipophilic components embedded in micelles, since cells actually take up lipophilic components arranged in micelles. This way, their destiny can be traced and their quantity can be measured reliably [13, 24, 57]. So far, little is known about the effect of factors that influence micelle formation (mixing intensity of bile salts, lipase, lipids and digested material), standardization is not yet possible [19, 23].

When modeling the small intestine, the presence of light and/or oxygen may affect the phytochemicals (e.g., carotenoids, polyphenols) and micronutrients (e.g., iron ions) in the sample [18, 23, 58]. The intestinal microbiota also plays a role in the bioactivation and metabolism of phytochemicals [18, 23]. For example, gastrointestinal bacteria affect the chemical binding of mercury (the occurrence of the more dangerous methyl mercury) and its bioavailability [59, 60]. A better understanding of the effects of light, oxygen and the microbiota may help to establish *in vitro* - *in vivo* correlations, as well as standardization in the case of specific studies that may be influenced by these factors [23].

During the measurement of bioavailability and prediction studies, it is recommended to separate the different components from the undigested fraction based on the INFOGEST model, which can be achieved by solubility (centrifugation and/or filtration) or dialyzability studies [19, 23, 45]. Incorporating dialysis into an *in vitro* digestion model would be important not only for the measurement of bioavailability, but also because, on the one hand, products that may inhibit digestive enzymes will accumulate [18] and, on the other hand, it is necessary if the digested material is to be used for cell culture based [61] or microbiological [62] studies. The parameters of the dialysis used in *in vitro* digestion models are very diverse, their standardization is also necessary.

3. Acknowledgment

This publication was supported by COST Action FA1005 and the “Thematic Excellence Program” TUDFO/51757-1/2019-ITM.

6. Literature

- [1] Brierley S., Costa M. (2016): *The Enteric Nervous System 30 Years Later*. Springer International Publishing AG, Switzerland.
- [2] Tortora G.J., Derrickson B. (2014): *Principles of Anatomy & Physiology 14th Edition*. John Wiley & Sons, Inc, United States of America.
- [3] Johnson L.R. (2014): *Gastrointestinal Physiology 8th Edition*. Mosby, Elsevier, China.
- [4] Tortora G.J., Derrickson B. (2009): *Principles of Anatomy & Physiology 12th Edition*. John Wiley & Sons, Inc, United States of America.
- [5] Leung P.S. (2014): *The Gastrointestinal System: Gastrointestinal, Nutritional and Hepatobiliary Physiology*. Springer, Dordrecht, Heidelberg, New York, London.
- [6] Norton J.E., Wallis G.A., Spyropoulos F., Lillford P.J., Norton I.T. (2014): Designing Food Structures for Nutrition and Health Benefits. *Annual Review of Food Science and Technology* 5 (1) 177–195.
- [7] Jyothi Lakshmi A., Gupta S., Prakash J. (2006): Comparative Analysis of Influence of Promoters and Inhibitors on *In Vitro* Available Iron Using Two Methods. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 57 (7–8) 559–569.
- [8] Verhoeckx K., Bøgh K.L., Dupont D., Egger L., Gadermaier G., Larré C., Mackie A., Menard O., Adel-Patient K., Picariello G., Portmann R., Smit J., Turner P., Untersmayr E., Epstein M.M. (2019): The Relevance of a Digestibility Evaluation in the Allergenicity Risk Assessment of Novel Proteins. Opinion of a Joint Initiative of COST Action ImpARAS and COST Action INFOGEST. *Food and Chemical Toxicology* 129 405–423.
- [9] Guerra A., Etienne-Mesmin L., Livrelli V., Denis S., Blanquet-Diot S., Alric M. (2012): Relevance and Challenges in Modeling Human Gastric and Small Intestinal Digestion. *Trends in Biotechnology* 30 (11) 591–600.
- [10] Ulleberg E.K., Comi I., Holm H., Herud E.B., Jacobsen M., Vegarud G.E. (2011): Human Gastrointestinal Juices Intended for Use in *In Vitro* Digestion Models. *Food Digestion* 2 (1) 52–61.
- [11] Verhoeckx K., Cotter P., López-Expósito I., Kleiveland C., Lea T., Mackie A., Requeana T., Swiatecka D., Wichers H. (2015): *The Impact of Food Bioactives on Health. In Vitro and Ex Vivo Models*. Cham, Heidelberg, New York, Dordrecht, London.

- [12] Levi C.S., Lesmes U. (2014): Bi-Compartmental Elderly or Adult Dynamic Digestion Models Applied to Interrogate Protein Digestibility. *Food & Function* **5** (10) 2402–2409.
- [13] Etcheverry P., Grusak M., Fleige L. (2012): Application of *In Vitro* Bioaccessibility and Bioavailability Methods for Calcium, Carotenoids, Folate, Iron, Magnesium, Polyphenols, Zinc, and Vitamins B₆, B₁₂, D, and E. *Frontiers in Physiology* **3** (Article 317) 1–22.
- [14] Laparra J.M., Barberá R., Farré R. (2005): Effect of Enzyme Amounts Used in Gastrointestinal Digestion Upon Solubility and Caco-2 Cell Uptake Assays of Minerals from Infant Formulas. *Food Science and Technology International* **11** (6) 425–431.
- [15] Frontela C., Ros G., Martínez C. (2011): Phytic Acid Content and “*In Vitro*” Iron, Calcium and Zinc Bioavailability in Bakery Products: The Effect of Processing. *Journal of Cereal Science* **54** (1) 173–179.
- [16] Briones-Labarca V., Venegas-Cubillos G., Ortiz-Portilla S., Chacana-Ojeda M., Maura H. (2011): Effects of High Hydrostatic Pressure (HHP) on Bioaccessibility, as Well as Antioxidant Activity, Mineral and Starch Contents in Granny Smith Apple. *Food Chemistry* **128** (2) 520–529.
- [17] Cámara F., Amaro M.A., Barberá R., Clemente G. (2005): Bioaccessibility of Minerals in School Meals: Comparison between Dialysis and Solubility Methods. *Food Chemistry* **92** (3) 481–489.
- [18] Alminger M., Aura A.-M., Bohn T., Dufour C., El S.N., Gomes A., Karakaya S., Martínez-Cuesta M.C., McDougall G.J., Requena T., Santos C.N. (2014): *In Vitro* Models for Studying Secondary Plant Metabolite Digestion and Bioaccessibility. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **13** (4) 413–436.
- [19] Bohn T., Carriere F., Day L., Deglaire A., Egger L., Freitas D., Golding M., Le Feunteun S., Macierzanka A., Menard O., Miralles B., Moscovici A., Portmann R., Recio I., Rémond D., Santé-Lhoutelier V., Wooster T.J., Lesmes U., Mackie A.R., Dupont D. (2018): Correlation between *In Vitro* and *In Vivo* Data on Food Digestion. What Can We Predict with Static *In Vitro* Digestion Models? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **58** (13) 2239–2261.
- [20] Xavier A.A.O., Mercadante A.Z. (2019): The Bioaccessibility of Carotenoids Impacts the Design of Functional Foods. *Current Opinion in Food Science* **26** 1–8.
- [21] Ballance S., Sahlstrøm S., Lea P., Nagy N.E., Andersen P. V., Dessev T., Hull S., Vardakou M., Faulks R. (2013): Evaluation of Gastric Processing and Duodenal Digestion of Starch in Six Cereal Meals on the Associated Glycaemic Response Using an Adult Fasted Dynamic Gastric Model. *European Journal of Nutrition* **52** (2) 799–812.
- [22] Bellmann S., Minekus M., Sanders P., Bosgra S., Havenaar R. (2018): Human Glycemic Response Curves after Intake of Carbohydrate Foods Are Accurately Predicted by Combining *In Vitro* Gastrointestinal Digestion with *In Silico* Kinetic Modeling. *Clinical Nutrition Experimental* **17** 8–22.
- [23] Brodtkorb A., Egger L., Alminger M., Alvito P., Assunção R., Ballance S., Bohn T., Bourlieu-Lacanal C., Boutrou R., Carrière F., Clemente A., Corredig M., Dupont D., Dufour C., Edwards C., Golding M., Karakaya S., Kirkhus B., Le Feunteun S., Lesmes U., Macierzanka A., Mackie A.R., Martins C., Marze S., McClements D.J., Ménard O., Minekus M., Portmann R., Santos C.N., Souchon I., Singh R.P., Vegarud G.E., Wickham M.S.J., Weitschies W., Recio I. (2019): INFOGEST Static *In Vitro* Simulation of Gastrointestinal Food Digestion. *Nature Protocols* **14** (4) 991–1014.
- [24] Lucas-González R., Viuda-Martos M., Pérez-Alvarez J.A., Fernández-López J. (2018): *In Vitro* Digestion Models Suitable for Foods: Opportunities for New Fields of Application and Challenges. *Food Research International* **107** 423–436.
- [25] Minekus M., Marteau P., Havenaar R., Huisintveld J.H.J. (1995): A Multicompartmental Dynamic Computer-Controlled Model Simulating the Stomach and Small-Intestine. *ATLA-Alternatives to Laboratory Animals* **23** (2) 197–209.
- [26] Verwei M., Minekus M., Zeijdner E., Schilderink R., Havenaar R. (2016): Evaluation of Two Dynamic *In Vitro* Models Simulating Fasted and Fed State Conditions in the Upper Gastrointestinal Tract (TIM-1 and Tiny-TIM) for Investigating the Bioaccessibility of Pharmaceutical Compounds from Oral Dosage Forms. *International Journal of Pharmaceutics* **498** (1) 178–186.
- [27] Bellmann S., Lelieveld J., Gorissen T., Minekus M., Havenaar R. (2016): Development of an Advanced *In Vitro* Model of the Stomach and Its Evaluation versus Human Gastric Physiology. *Food Research International* **88** (Part B) 191–198.
- [28] Wickham M.J.S., Faulks R.M., Mann J., Mandalari G. (2012): The Design, Operation, and Application of a Dynamic Gastric Model. *Dissolution Technologies* **19** (3) 15–22.

- [29] Kong F., Singh R.P. (2010): A Human Gastric Simulator (HGS) to Study Food Digestion in Human Stomach. *Journal of Food Science* **75** (9) E627–E635.
- [30] de La Pomélie D., Santé-Lhoutellier V., Sayd T., Gatellier P. (2018): Oxidation and Nitrosation of Meat Proteins under Gastro-Intestinal Conditions: Consequences in Terms of Nutritional and Health Values of Meat. *Food Chemistry* **243** 295–304.
- [31] Ménard O., Cattenoz T., Guillemin H., Souchon I., Deglaire A., Dupont D., Picque D. (2014): Validation of a New *In Vitro* Dynamic System to Simulate Infant Digestion. *Food Chemistry* **145** 1039–1045.
- [32] Guerra A., Denis S., le Goff O., Sicardi V., François O., Yao A.-F., Garrat G., Manzi A.P., Beyssac E., Alric M., Blanquet-Diot S. (2016): Development and Validation of a New Dynamic Computer-Controlled Model of the Human Stomach and Small Intestine. *Biotechnology and Bioengineering* **113** (6) 1325–1335.
- [33] Dupont D., Alric M., Blanquet-Diot S., Bornhorst G., Cueva C., Deglaire A., Denis S., Ferrua M., Havenaar R., Lelieveld J., Mackie A.R., Marzorati M., Menard O., Minekus M., Miralles B., Recio I., Van den Abbeele P. (2019): Can Dynamic *In Vitro* Digestion Systems Mimic the Physiological Reality? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **59** (10) 1546–1562.
- [34] Tenjarla S., Romasanta V., Zeijdner E., Villa R., Moro L. (2007): Release of 5-Aminosalicylate from an MMX Mesalamine Tablet during Transit through a Simulated Gastrointestinal Tract System. *Advances in Therapy* **24** (4) 826–840.
- [35] Venema K., Verhoeven J., Verbruggen S., Keller D. (2020): Xylo-Oligosaccharides from Sugarcane Show Prebiotic Potential in a Dynamic Computer-Controlled *In Vitro* Model of the Adult Human Large Intestine. *Beneficial Microbes* **11** (2) 191–200.
- [36] Van den Abbeele P., Grootaert C., Marzorati M., Possemiers S., Verstraete W., Gérard P., Rabot S., Bruneau A., El Aidy S., Derrien M., Zoetendal E., Kleerebezem M., Smidt H., Van de Wiele T. (2010): Microbial Community Development in a Dynamic Gut Model Is Reproducible, Colon Region Specific, and Selective for *Bacteroidetes* and *Clostridium* Cluster IX. *Applied and Environmental Microbiology* **76** (15) 5237–5246.
- [37] Barroso E., Cueva C., Peláez C., Martínez-Cuesta M.C., Requena T. (2015): Development of Human Colonic Microbiota in the Computer-Controlled Dynamic SIMulator of the GastroIntestinal Tract SIMGI. *LWT - Food Science and Technology* **61** (2) 283–289.
- [38] Cordonnier C., Thévenot J., Etienne-Mesmin L., Denis S., Alric M., Livrelli V., Blanquet-Diot S. (2015): Dynamic *In Vitro* Models of the Human Gastrointestinal Tract as Relevant Tools to Assess the Survival of Probiotic Strains and Their Interactions with Gut Microbiota. *Microorganisms* **3** (4) 725–745.
- [39] Fogliano V., Corollaro M.L., Vitaglione P., Napolitano A., Ferracane R., Travaglia F., Arlorio M., Costabile A., Klinder A., Gibson G. (2011): *In Vitro* Bioaccessibility and Gut Biotransformation of Polyphenols Present in the Water-Insoluble Cocoa Fraction. *Molecular Nutrition & Food Research* **55** (S1) S44–S55.
- [40] Williams C.F., Walton G.E., Jiang L., Plummer S., Garaiova I., Gibson G.R. (2015): Comparative Analysis of Intestinal Tract Models. *Annual Review of Food Science and Technology* **6** (1) 329–350.
- [41] Venema K., van den Abbeele P. (2013): Experimental Models of the Gut Microbiome. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* **27** (1) 115–126.
- [42] Molly K., Vande Woestyne M., Verstraete W. (1993): Development of a 5-Step Multi-Chamber Reactor as a Simulation of the Human Intestinal Microbial Ecosystem. *Applied Microbiology and Biotechnology* **39** (2) 254–258.
- [43] Van den Abbeele P., Belzer C., Goossens M., Kleerebezem M., De Vos W.M., Thas O., De Weirdt R., Kerckhof F.-M., Van de Wiele T. (2013): Butyrate-Producing *Clostridium* Cluster XIVa Species Specifically Colonize Mucins in an *In Vitro* Gut Model. *The ISME Journal* **7** (5) 949–961.
- [44] Marzorati M., Vanhoecke B., De Ryck T., Sadaghian Sadabad M., Pinheiro I., Possemiers S., Van den Abbeele P., Derycke L., Bracke M., Pieters J., Hennebel T., Harmsen H.J., Verstraete W., Van de Wiele T. (2014): The HMI™ Module: A New Tool to Study the Host-Microbiota Interaction in the Human Gastrointestinal Tract *In Vitro*. *BMC Microbiology* **14** (1) 133.
- [45] Minekus M., Alminger M., Alvito P., Ballance S., Bohn T., Bourlieu C., Carrière F., Boutrou R., Corredig M., Dupont D., Dufour C., Egger L., Golding M., Karakaya S., Kirkhus B., Le Feunteun S., Lesmes U., Macierzanka A., Mackie A., Marze S., McClements D.J., Ménard O., Recio I., Santos C.N., Singh R.P., Vegarud G.E., Wickham M.S.J., Weitschies W., Brodkorb A. (2014): A Standardised Static *In Vitro* Digestion Method Suitable for Food – an International Consensus. *Food & Function* **5** (6) 1113–1124.
- [46] Payne A.N., Zihler A., Chassard C., Lacroix C. (2012): Advances and Perspectives in *In Vitro* Human Gut Fermentation Modeling. *Trends in Biotechnology* **30** (1) 17–25.

- [47] Van Buggenhout S., Alminger M., Lemmens L., Colle I., Knockaert G., Moelants K., Van Loey A., Hendrickx M. (2010): *In Vitro* Approaches to Estimate the Effect of Food Processing on Carotenoid Bioavailability Need Thorough Understanding of Process Induced Microstructural Changes. *Trends in Food Science & Technology* **21** (12) 607–618.
- [48] Claude M., Lupi R., Picariello G., Drouet M., Larré C., Denery-Papini S., Brossard C. (2019): Digestion Differently Affects the Ability of Native and Thermally Aggregated Ovalbumin to Trigger Basophil Activation. *Food Research International* **118** 108–114.
- [49] Gough R., O'Connor P.M., Rea M.C., Gómez-Sala B., Miao S., Hill C., Brodkorb A. (2017): Simulated Gastrointestinal Digestion of Nisin and Interaction between Nisin and Bile. *LWT* **86** 530–537.
- [50] Egger L., Ménard O., Delgado-Andrade C., Alvito P., Assunção R., Balance S., Barberá R., Brodkorb A., Cattenoz T., Clemente A., Comi I., Dupont D., Garcia-Llatas G., Lagarda M.J., Le Feunteun S., JanssenDuijghuijsen L., Karakaya S., Lesmes U., Mackie A.R., Martins C., Meynier A., Miralles B., Murray B.S., Pihlanto A., Picariello G., Santos C.N., Simsek S., Recio I., Rigby N., Rioux L.-E., Stoffers H., Tavares A., Tavares L., Turgeon S., Ulleberg E.K., Vegarud G.E., Vergères G., Portmann R. (2016): The Harmonized INFOGEST *In Vitro* Digestion Method: From Knowledge to Action. *Food Research International* **88** 217–225.
- [51] Szmola R., Bence M., Carpentieri A., Szabó A., Costello C.E., Samuelson J., Sahin-Tóth M. (2011): Chymotrypsin C Is a Co-Activator of Human Pancreatic Procarboxypeptidases A1 and A2. *The Journal of Biological Chemistry* **286** (3) 1819–1827.
- [52] Mamone G., Nitride C., Picariello G., Addeo F., Ferranti P., Mackie A. (2015): Tracking the Fate of Pasta (*T. Durum* Semolina) Immunogenic Proteins by *In Vitro* Simulated Digestion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **63** (10) 2660–2667.
- [53] Picariello G., Miralles B., Mamone G., Sánchez-Rivera L., Recio I., Addeo F., Ferranti P. (2015): Role of Intestinal Brush Border Peptidases in the Simulated Digestion of Milk Proteins. *Molecular Nutrition & Food Research* **59** (5) 948–956.
- [54] Gouseti O., Bornhorst G., Bakalis S., Mackie A. (2019): *Interdisciplinary Approaches to Food Digestion*. Springer, Cham.
- [55] Monro J.A., Mishra S., Venn B. (2010): Baselines Representing Blood Glucose Clearance Improve *In Vitro* Prediction of the Glycaemic Impact of Customarily Consumed Food Quantities. *British Journal of Nutrition* **103** (2) 295–305.
- [56] Alongi M., Melchior S., Anese M. (2019): Reducing the Glycemic Index of Short Dough Biscuits by Using Apple Pomace as a Functional Ingredient. *LWT* **100** 300–305.
- [57] Gille A., Hollenbach R., Trautmann A., Posten C., Briviba K. (2019): Effect of Sonication on Bioaccessibility and Cellular Uptake of Carotenoids from Preparations of Photoautotrophic *Phaeodactylum tricornutum*. *Food Research International* **118** 40–48.
- [58] Luten J., Crews H., Flynn A., Van Dael P., Kastenmayer P., Hurrell R., Deelstra H., Shen L.-H., Fairweather-Tait S., Hickson K., Farré R., Schlemmer U., Fröhlich W. (1996): Interlaboratory Trial on the Determination of the *In Vitro* Iron Dialysability from Food. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **72** (4) 415–424.
- [59] Laird B.D., Shade C., Gantner N., Chan H.M., Siciliano S.D. (2009): Bioaccessibility of Mercury from Traditional Northern Country Foods Measured Using an *In Vitro* Gastrointestinal Model Is Independent of Mercury Concentration. *Science of The Total Environment* **407** (23) 6003–6008.
- [60] Moreda-Piñeiro J., Moreda-Piñeiro A., Romarís-Hortas V., Moscoso-Pérez C., López-Mahía P., Muniategui-Lorenzo S., Bermejo-Barbera P., Prada-Rodríguez D. (2011): In-Vivo and in-Vitro Testing to Assess the Bioaccessibility and the Bioavailability of Arsenic, Selenium and Mercury Species in Food Samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **30** (2) 324–345.
- [61] Yun S., Habicht J.-P., Miller D.D., Glahn R.P. (2004): An *In Vitro* Digestion/Caco-2 Cell Culture System Accurately Predicts the Effects of Ascorbic Acid and Polyphenolic Compounds on Iron Bioavailability in Humans. *The Journal of Nutrition* **134** (10) 2717–2721.
- [62] Breynaert A., Bosscher D., Kahnt A., Claeys M., Cos P., Pieters L., Hermans N. (2015): Development and Validation of an *In Vitro* Experimental Gastrointestinal Dialysis Model with Colon Phase to Study the Availability and Colonic Metabolisation of Polyphenolic Compounds. *Planta Medica* **81** (12–13) 1075–1083.
- [63] Stevens C.E. (2019): Digestive system In: AccessScience. McGraw-Hill Education. doi:10.1036/1097-8542.194600. <https://www.accessscience.com/content/194600> (Hozzáférés/ Acquired: 16.11.2020.)



A kép illusztráció / Picture is for illustration only

Bánáti Diána¹

Érkezett: 2020. október – Elfogadva: 2020. november

Vega hamburgerek, vegán húсок?

Az Európai Parlament döntése a növényi alapú húspótló élelmiszerek elnevezéséről

Kulcsszavak: vegetáriánus, vegán, hús helyettesítők, növényi alapú hús, laboratóriumban előállított hús, sejtszintű mezőgazdaság (a szaknyelvben esetenként a „celluláris mezőgazdaság” kifejezést is használják. A szerk.), vegán burger

1. ÖSSZEFOGLALÁS

A jelenlegi élelmiszer-ellátó rendszer nem felel meg a XXI. század követelményeinek. Az egészségünket veszélyeztetheti az a mód, ahogyan termeljük és feldolgozzuk az élelmiszereket, sőt a világ növekvő népességét sem tudjuk így ellátni. A laboratóriumban előállított hús és a növényi alapú húshelyettesítők egyre népszerűbbek. A Petri-csészében növekvő hússzövet egyre több befektető érdeklődését felkeltette. A növényi alapú étrend egyre fontosabbá válik mind az egészségtudatos, mind pedig a környezettudatos fogyasztók számára, sőt hozzájárul a fenntarthatósághoz. Számos országban gyorsan növekszik a növényi alapú fehérjék iránti igény, nemcsak hamburger alternatívák, hanem egyéb új, innovatív termékek formájában is. Sorra jelennek meg alternatív hús termékek, például a 'vegán burgerek', a 'szója steak', a 'tofu kolbász' és hasonlók. Az Európai Unióban heves vita bontakozott ki a hús helyettesítő termékek elnevezését illetően. Kérdéssé vált, hogy az olyan elnevezések, mint 'vegetáriánus hamburger' vagy 'szója kolbász' nem tévesztik-e meg a fogyasztót. Az Európai Parlament a közelmúltban úgy döntött, hogy a 'hús' lehet növényi alapú, ugyanakkor csak az állati eredetű tejet szabad tejnek nevezni. A növényi alapú termékeket nem szabad tejnek, tejszínnek, vajnak, sajtnak vagy joghurtnak nevezni, mert a jogszabályok szerint azok csak állati eredetű élelmiszerek elnevezései lehetnek. A magyar, német, spanyol és más nemzetek hagyományosan sok(féle) húst fogyasztanak. A húсок, húskészítmények fogyasztása része ezen népek kultúrájának; hagyományosan nagyra értékelik a húсок szerepét. Kérdéses, hogy az EP mostani döntése vajon nem vált-e ki értetlenséget és ellenállást, amint egy 'lehetetlen növényi hamburger' kerül az asztalukra.

2. Bevezetés – Asztalunk és a Föld

Élelmezési rendszerünk már nem illeszkedik a XXI. század követelményeihez – figyelmeztetett a Világ-gazdasági Fórum (WEF – World Economic Forum) [1]. Az élelmiszer kulturális identitásunk része és életben maradásunk legalapvetőbb feltétele. Az elmúlt 200 évben a mezőgazdaság és a globális élelmiszeripar példátlan fejlődése volt tapasztalható, amelynek révén ma már sok ember biztonságosan, megfizethető módon férhet hozzá a különféle élelmiszerekhez. Ennek ellenére egyre nyilvánvalóbbá válik, hogy az élelmiszerek előállításának és feldolgozásának módja

alááshatja az egészségünket és nem mindig alkalmas a növekvő globális népesség igényeinek biztonságos kielégítésére. A WEF állítása szerint a „nem-egészséges” élelmiszer-előállító rendszerben nem lehetséges „egészséges” táplálkozási döntéseket hozni. Annak ellenére, hogy egyre inkább arra ösztönöznek bennünket, hogy táplálkozzunk felelősségteljesebben, be kell látni, hogy a jelenlegi élelmiszer-termelés negatív egészségügyi hatásai többnyire elkerülhetetlenek. A fogyasztó akár látszólag egészséges salátát, vagy hamburgert választ, akkor is olyan ételekkel fog táplálkozni, amelyek aláássák egészségét és rontják közérzetét.

¹ Szegedi Tudományegyetem, Mérnöki Kar

Az Egyesült Nemzetek Szervezete becslése szerint 2019-ben világszerte 7,7 milliárd ember élt, a népesség 2030-ban 8,5 milliárdra, 2050-ben 9,7 milliárdra, 2100-ban pedig 10,9 milliárdra nőhet, amelyet el kell látnunk élelmiszerekkel [2].

3. Fenntartható étrend

2019-ben az EAT-Lancet Bizottság [3] elsőként dolgozta ki a világon az egészséges és fenntartható ételmezési rendszerekre vonatkozó tudományos célkitűzéseit, ami magában foglalja a „*Planetary Health Diet*” (Bolygószintű Egészséges Étrend) elnevezésű programot is az egyes élelmiszer csoportokra vonatkoztatva meghatározott napi fogyasztási adagok kijelölésével. A „*Planetary Health Diet*” egy olyan étrendi protokoll, amelyet számos kiváló minőségű növényi étel és kis mennyiségben fogyasztott állati eredetű étel, finomított gabona, hozzáadott cukor és egyes egészségtelen zsírok fogyasztása jellemez.

A jelenlegi étrendhez képest ehhez a változáshoz az olyan élelmiszerek, mint a vörös hús és a cukor, globális fogyasztása 50% -kal csökken, míg a gyümölcsök, diófélék, zöldségek és hüvelyesek fogyasztásának meg kell duplázódnia. Ugyanakkor a bizottság hangsúlyozza a kitűzött célok helyi sajátosságokhoz való alakításának fontosságát. Például, míg az észak-amerikai országokban jelenleg a vörös hús ajánlott mennyiségének csaknem 6,5-szeresét, a dél-ázsiai országok pedig az ajánlott mennyiségnek csak a felét fogyasztják. Kétségtelen, hogy ilyen példa nélküli radikális és széles körű elmozdulás a globális ételmezési rendszer felé, több ágazatot átfogó, az érintett szereplők többszintű fellépésétől is függő folyamat [4].

4. Növényi alapú étrend

Ha étrendünkben a húsféleségeket akár környezeti, akár filozófiai, etikai, egészségügyi vagy egyéb okokból mellőzni kívánjuk, akkor táplálkozásunkat a növényi eredetű fehérjékre kell alapozni. A növényi étrend a nagy mennyiségű húsfogyasztásnak alternatívája.

A növényi alapú étrend mind az egészség- és környezettudatos fogyasztók, mind a környezeti fenntarthatóság szempontjából egyre fontosabbá válik (a növényi étrendet az egészségre és a környezete gyakorolt hatásai miatt előnyösnek tekintik). Ugyanakkor sem hivatalos meghatározás, sem társadalmi alapú meg egyezés nem létezik, amely meghatározná, hogy mit értsünk növényi alapú étrend fogalma alatt. A kifejezést a mediterrán étrendtől a vegetáriánus és vegán étrendig különféle étrendi szokások megjelölésére használják. A növényi étrend elsősorban az egészséges növényi élelmiszerek, például gyümölcsök, zöldségek, bab, hüvelyesek, diófélék stb. fogyasztását jelenti és nem feltétlenül zárja ki a hús és tejtermékek fogyasztását, így nem szükségszerűen jelenti az állati eredetű termékek szigorú kizárását. (A flexitariánus étrendet követő fogyasztók az egészséges növényi

ételek fogyasztását és a kiegyensúlyozott étrendet javasolják a hús és tejtermékek kizárása nélkül, ugyanakkor hangsúlyozzák a húsfélék mennyiségének és fogyasztási gyakoriságának csökkentését.)

A növényi eredetű élelmiszerek fogyasztása soha nem látott ütemben növekszik [5]. A növényi eredetű élelmiszerek fogyasztói világszerte 56% -ban egyre több növényi eredetű ételt és italt szándékoznak fogyasztani, ezzel az alternatív (nem állati eredetű) fehérjéket egyre inkább a főáramú élelmiszer fogyasztás rendszerébe kívánják illeszteni. A növényi eredetű fehérje termékek iránti kereslet gyorsan bővül az új és újszerű termékek hamburger-analógjain túl, beleértve az alternatív tengeri ételeket, például a kagylót és a garnélarákot, a növényi alapú sajtokat, a fogyasztásra kész fehérje tartalmú snackeket és még sok más terméket. A táplálkozás területén a növényi fehérjék előtérbe kerülnek. A legutóbbi felmérések rámutattak a 100% -ban növényi alapú étrendre való áttérés egészségügyi előnyeire. Ugyanakkor felmerül a kérdés, hogy a fogyasztók ténylegesen mit tudnak a növényi és az állati fehérjéről? Felfogásuk vajon megfelel-e a valóságnak [6]?

Az táplálkozási rendszerekbe az állati eredetű nyersanyagokat kiváltó, újfajta növényi nyersanyagok törtek be, amelyeket az előbbiektől az állati hús ízének és állagának utánzására való törekvés különbözteti meg. Az Egyesült Államokban 2019 végén 1000 felnőtt körében végeztek egy felmérést [7]. A kutatásban résztvevő egyének orientációja érdekében az új élelmiszer kategóriát „hús nélküli hamburgernek, csirkének, halnak, kolbásznak és más aprított termékeknek írták le, amelyek az állati fehérje állagát, ízét kísérik meg utánozni, de csak növényi alapanyagokból készültek”. A felmérés során ezeket az ételeket együttesen „az állati hús növényi kiváltóiként” emlegették. A felmérés kezdetén megkérdezték a résztvevőket, hogy milyen étrendet követnek. A válaszokból a következő étkezési jellemzőket határozták meg: mindenevő, vegetáriánus, egyes napokon vegetáriánus, de nem minden nap, vegán és hal fogyasztó. Nem meglepő, hogy a felmérésben résztvevő személyek elsősorban többsége (66%) mindenevőnek nevezte magát. A felmérés résztvevőinek csaknem fele (49%) számolt be arról, hogy már kóstolta ezeket az újabb, hús nélkül készült termékeket. A mindenevők kisebb hányada (44%) próbálkozott növényi élelmiszerekkel az állatok húsa helyett, szemben a vegetáriánusokkal (72%), a „néha” vegetáriánusokkal (77%), a vegánokkal (76%), illetve a halat fogyasztókkal (75%). Az állatok húst kiváltó növényi termékek kipróbálása a fiatalabb népesség körében gyakoribb volt, a legvalószínűbb fogyasztók a 45 évnél fiatalabbak (62%) voltak. Bár számos oka van annak, hogy az emberek kipróbálták az állati eredetű hús növényi alapú kiváltóit, a legfőbb oka az, hogy az emberek szívesen kóstolnak újfajta élelmiszereket (41%).

Ellentmondás áll fenn abban a tekintetben, hogy a fogyasztók mit gondolnak a növényi fehérjék előnyeiről

és a növényi fehérjék valójában mit tudnak nyújtani. De melyek a tények a növényi és állati eredetű fehérjéről? Egy 2020-ban végzett felmérés [8] rámutat arra, hogy a táplálkozási kihívások mellett érzékszervi követelményekkel is számolni kell: a növényi eredetű fehérje új piaci potenciáljának kiaknázásában valamennyi termék textúrája és íze döntő fontosságú. A gyártóknak szem előtt kell tartaniuk azokat a jelenlegi akadályokat, amelyek visszarententik a fogyasztókat az új élelmiszerek elfogadásától és a növényi alapú termékek kipróbálásától: az ár ugyan a legjelentősebb tényező, de a termékek íze és a végtermék összetétele is jelentős akadály, amire a fogyasztók egyre nagyobb figyelmet fordítanak.

5. Hússzükséglet

A World Resources Institute [9] adatai szerint 2010 és 2050 között a globális hús- és tejfogyasztás közel 70 százalékkal, a marhahús fogyasztása pedig több mint 80 százalékkal nő. Az egyéni átlagjövedelem és a népesség növekedésével az egy főre eső hús fogyasztás és az összes fogyasztott hús mennyiségének globális átlaga is növekszik. A növekedési arányok régióként eltérőek, a nagy jövedelmű országokban a fogyasztás statikus vagy csökkenő, a közepes jövedelmű országokban pedig mérsékelten vagy erősen növekszik, míg az alacsony jövedelmű országokban a hús fogyasztás átlagosan csekély szintű és nem változik. Az egy főre eső, globálisan elfogyasztott hús átlagos mennyisége az elmúlt 50 évben csaknem megduplázódott, az 1961-es 23 kg-ról 2014-re 43 kg-ra nőtt. Az átlagos egyéni hús fogyasztás mértéke alapján megállapítható, hogy a teljes hústermelés sokkal gyorsabban nőtt, mint a népesség gyarapodása. A hústermelés 1961 óta négyszeresére-ötszörösére nőtt [10]. A hús iránti keresletnek gazdasági és kulturális alapja is van.

Az élelmiszer fogyasztás mértéke a népesség növekedése és jövedelme révén a legtöbb árucikk egy főre jutó nagyobb mennyisége miatt a jövőben tovább fog növekedni, a kereslet növekedés az elkövetkező tíz évben a legnagyobb mértékben a fejlődő világban várható. A hús és a hal fogyasztása azonban az étkezési szokásoktól és a jövedelmek szintjétől függően az egyes régiókban jelentősen eltér. A 2018 és 2027 közötti időszakban globális szinten a hús és a hal teljes fogyasztása várhatóan 15% -kal fog növekedni [11].

6. Sejtszintű mezőgazdaság (cellular agriculture) és szövetkultúrából származó hús

Az élelmiszer-termelés jövőbeni átalakítása érdekében számba vehető a sejtenyésztés és a növényi alapú alternatív fehérjék előállítása. A sejtszintű mezőgazdaság, a laboratóriumi termelésű hús előállítása egyre nagyobb lendületet vesz, és a befektetőket is vonzza. Az első tenyésztett húshamburgert, laboratóriumi termelésű – őssejtekből származó – húsból készített hamburgert 2013-ban mutatták be Hollandiában. A nagyüzemi gyártás technológiájának fejlesztése öt évig tartott. Ez az egyedi termék (kb. 140 g szelet) darabonként mintegy 250 000 euróba került [12].

Elteltekintve az olyan hús előállításával járó nagy költségek csökkentésétől, amelynek tulajdonságai megegyeznek egy állatállomány húsnak jellemzőivel, a hatósági engedélyezési folyamat jelenti az egyik legnagyobb kihívást a termékek előállítója számára. Európában egy ilyen új terméknek szigorú, az „új élelmiszerek” terminológia szerinti szabályozási folyamatán kell átesnie, amely magában foglalja az új élelmiszer biztonságának dokumentálását az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság (EFSA) felé. A folyamat legalább 18 hónapig tart.

A San Francisco-i székhelyű Memphis Meats az állatok húsa helyett sejtekből állít elő hús terméket. A terméket *sejtalapú húsnak* nevezik, és *valódi húsként* forgalmazzák [13]. Az élelmiszert úgy állítják elő, hogy állatokból kiváló minőségű sejteket szereznek, majd a szükséges tápanyagokkal (például aminosavakkal, cukrokkal, nyomelemekkel és vitaminokkal) táplálva növesztik hússá a sejteket. Az induló kultúrához szükséges sejtek kinyerésére különböző módszerekkel kísérleteznek, ideértve az élő állatok biopsziáit, a tojásokat, a halászatot és a nemrégiben levágott állatokat, amelyek már az élelmiszer-rendszer részét képezték. Bemutatták a világ első sejtalapú marhahúsgombócát, csirkéjét és kacsját, és a kutatók más húsfélések előállításán is dolgoznak.

Az izraeli Aleph Farms egy 2017-ben alapított élelmiszer-technológiai startup cég, amely marhasejtekből származó hússzeleteket állít elő egy 3D szövetmérnöki platform segítségével. A termesztett marhahús steak előállítási módszere szintén a szarvasmarha testében bekövetkező, de ellenőrzött körülmények között zajló izomszöveti regeneráció természetes folyamatának utánzásán alapul. 2019 októberében jelentették be, hogy a vállalat sikeresen hozott létre húst a Nemzetközi Űrállomáson is [14, 15].

7. Növény alapú húshelyettesítők, „Lehetetlen Burgerek”

Egy kaliforniai székhelyű vállalat 2016 júliusában hozta forgalomba első, növényekből származó alapanyagból készült húsanalóg termékét, az *Impossible™ Burger*-t. E terméket a szójából származó leghemoglobin (*bizonyos pillangós virágú növényekben található oxigénszállító hem-vázis vegyület; a Szerk.*) különbözteti meg az egyéb, növényi alapú hamburgertől. A termék biztosítja a hamburger ízét, és hús-része „vérzik”, amikor azt felvágják, így egyértelműen alkalmas hamburger készítésére. A marhahúsból található hemtől eltérően az *Impossible™ Burger* hemjét genetikailag úgy módosítják, hogy szójafehérjét adnak a géntechnológiával módosított élesztőhöz (*Pichia pastoris*) [16]. A vállalat állítása szerint ez a technológia 95%-kal kevesebb földterületet és 74% -kal kevesebb vizet igényel, és körülbelül 87%-kal

kevesebb üvegházhatású gázt bocsát ki, mintha azt darált marhahúsból állítanák elő [17].

Az egyik gyorsétteremlánc kedveltségi szempontból tesztelte egy hamburgerfajta vegetáriánus változatát. A termék akkora sikert aratott, hogy a lánc *Impossible* jelzővel tervezte bevezetését az Egyesült Államok egész területén [18].

Egy nagy amerikai pizzalánc is csatlakozott a növényi eredetű fehérje trendhez egy olyan pizzával, amelynek feltétjében nem húsból készült kolbászt használtak [19]. A pizzalánc nagy sikerrel tesztelte a hús nélküli kolbászt tartalmazó feltéttel az *Impossible* pizza kedveltségét az Egyesült Államok különböző államaiban.

A forgalomban lévő egyéb zöldségburgerek általában a fentiekhez hasonló összetevőket tartalmaznak. Vannak azonban olyanok is, amelyek több, teljes élelmiszer alapanyagból készült összetevőt tartalmaznak, például lencsét, quinoát, kenderet és fekete babot.

A kaliforniai székhelyű Beyond Meat cég [20] borsófehérjét és céklát használ növényi alapú hamburgerek készítéséhez, amelyek valódi hamburger ízűek. A cékla a valódi hús színének utánzására szolgál. A fehérje a borsóból származik, a készítmény lédús szerkezetét kókuszolaj és burgonyakeményítő biztosítja [21]. A Beyond Meat nem használ genetikailag módosított alapanyagokat, szóját vagy glutént. Növényekből „húsos aromát és ízt” biztosító vegyületeket használnak fel.

2019-ben egy másik hamburgerlánc öt vezető tengerentúli piacának egyikében, Németországban vegán hamburger forgalmazását kezdte meg. A hús nélküli hamburger szója- és búzafehérjéből készül, és cékla, sárgarépa valamint kaliforniai paprika kivonatokkal támogatja a húsos megjelenés és textúra kialakítását. Két évvel korábban [22] a vállalat bejelentette, hogy egy szójapogácsával készített hamburgert dob piacra Finnországban és Svédországban. A Givaudan cég [23] a növényi eredetű hal termékeket az alternatív fehérjék „következő nagy tényezőjének” nevezte. A nagy, svájci ételízesítő gyártó, az amerikai Berkeley, illetve a Kaliforniai Egyetemmel közösen készített legújabb kutatási cikkében hangsúlyozta a gyártók és a jövőbeli piac fejlődésének lehetőségeit és kihívásait. Bár ugyanazok a nagyívű változások befolyásolják a húspótló termékek ágazatát, a halak és kagylók alternatívái iránti érdeklődés mégis tükrözi a halászati és kagylóágazat néhány sajátos kihívását - magyarázza a szerző.

8. Hús helyettesítők a piacon

A nagy koleszterin szintű vegán fogyasztó ugyanolyan ellentmondásnak tűnik, mint egy hús nélküli hamburger. Mindazonáltal nemcsak, hogy mindkettő létezik, de mindkettő élelmiszer csoport közös

előzményekkel rendelkezik, mint a hús helyettesítő 'Beyond Meat' és 'Impossible Foods' termékek [24].

Az alternatív húskészítmények, például a vegán hamburgerek, a szójához, a tofu kolbász és mások is folyamatosan fejlődnek, az új technológiák, például a 3D nyomtatás és a fehérje-mérnökség játszanak szerepet a termékek újítására való ösztönzésében.

A fentiekből következően sokféle növényi eredetű hús helyettesítő termék létezik, például a hem alapú hamburgerek tölteléke (például az *Impossible Burger*, amely egy hagyományos leghemoglobint „hem” szójafehérjét használ a hagyományos marhahamburger véres állagának szimulálásához), vagy más szója alapú hamburgerek (évtizedek óta gyártják) és más növényi fehérje alapú burgerek. Egyesek alapanyagként borsófehérjét használnak szója helyett.

Egészségügyi megfontolások alapján a növényi alapú termékeket vásárlók 90 százaléka hús fogyasztó, akik úgy élik, hogy a növényi termékek egészségesebbek és környezetvédelmi szempontból előnyösebbek [25]. Az 1981-1996-ban született Y-generáció tagjai a növényi eredetű hús helyettesítők legfőbb fogyasztói - állapítja meg a „The Future of Plant-based Snapshot” tanulmány. Ez a generációs csoport az élvezhető táplálkozás céljára növényi alapú hús helyettesítőket fogadott el, miközben hosszútávú egészségügyi céljait és az állatokkal való bánásmóddal kapcsolatos aggályokat is tekintetbe veszi. Az 1965-1980-as születésű X-generáció tagjai szintén a növényi alapú hús-helyettesítők egyik fő fogyasztói, és mivel ebből a csoportból már sokan az őket követő Z-generáció szülei lettek, a Z-generációs gyermekeket növényi eredetű italok és ételek fogyasztása mellett nevelték fel.

Az új élelmiszer termékek mindig kockázatot jelentenek, az új kategóriák pedig még inkább. Az újdonságok azonban többnyire vonzzák a fogyasztókat. Kérdés, hogy a húst helyettesítő termékeket előállító vállalatok reagálnak-e erre a divatra, vagy tartós lesz-e a húst helyettesítő termékek piaca?

Az Euromonitor International (EI) felmérése szerint 2018-ban a húspótlók forgalmazásával 19,5 milliárd USD árbevétel érték el [26]. 2023-ra az amerikai húspótló kiskereskedelmi piac elérheti a 2,5 milliárd dollárt, szemben a tavalyi 1,4 milliárd dollárral. Világszinten a piaci részesedés a 2018. évi mintegy 18,7 milliárdról 2023-ra 23 milliárdra nőhet [27].

9. Rovarok

A rovarokat szintén széles körben tekintik fehérje forrásoknak, azonban az európai fogyasztók kétségtelenül nem tartanák a rovarokat megszokott étrendjük és kultúrájuk részének. E tanulmány terjedelme nem teszi lehetővé e téma bővebb tárgyalását, de a szerző felhívja a figyelmet az esetleges allergén hatásokkal kapcsolatban felvetett aggályokra.

10. Viták – pro és kontra

Az Európai Unióban heves vita alakult ki a hús pótló termékek megnevezéseiről.

Az EU tagállamoknak már volt hatáskörük saját étel-miszer jelölési rendeletek kiadására a fogyasztók megtévesztésének megakadályozása érdekében. 2020 elején Franciaország rendeletet hozott a hús nevet tartalmazó terminológia használatának betiltásáról a vegetáriánus és vegán helyettesítők jelöléseként. A holland kormány azonban 2019-ben bejelentette, hogy a növényi hús helyettesítő termékek előállítói használhatnak olyan kifejezéseket, mint a „csirke”, amennyiben egyértelműen megjelölték, hogy vegán vagy vegetáriánus termékről van szó. Az Egyesült Államokban is terjed az az elv, amely gátolja a növényi alapú hús termelőknek a hússal kapcsolatos névenklatúra használatát. E tekintetben az egyes USA tagállamok jogszabályokat fontolgatnak ill. fogadnak el. A vegán ételeket gyártó cégek és a vegán ételeket kedvelő csoportok azonban a szövetségi bíróságokon jogi kereseteket indítanak a tiltó jogszabályok érvényesítése ellen [28].

Az Európai Parlamentben a jelentős agrár reformról folytatott vita keretében 2020 októberében napirenden volt az étel-miszeripari termékek megnevezése. A kérdés az volt, hogy a „zöldség burgerek” vagy a „szója kolbászok” megnevezések félrevezetőek-e? Az Európai Parlamentnek szavaznia kellett arról, hogy a növényi eredetű étel-miszeripari termékek jelölésére hagyományosan a hús- és tejiparban használatos kifejezéseket tartalmazó megnevezéseket szabad-e használni.

„A húspótló termékek félrevezető elnevezései” volt a címe annak a beadványnak, amelyet egy olasz parlamenti képviselő nyújtott be írásban az Európai Bizottsághoz az Európai Parlamentben [29]. A képviselő azt állította, hogy a vegetáriánus, a vegán és más étrendekhez kapcsolódó termékek népszerűsége új piacot teremtett az új étel-miszerek számára. A szupermarketek polcain egyre több vegetáriánus és vegán készítmény található, amelyek csomagolva húsnak tűnnek, és olyan hatásos marketing neveket kapnak, mint a „vegán bresaola”, a „vegan mortadella” és a „vegán T-csontos steak”. Az Európai Unió Húsfeldolgozó Iparának Kapcsolattartó Központja (Liaison Centre for the Meat Processing Industry – CLITRAVI) régóta szorgalmazza a tejágazatban már meglévőkhöz hasonló uniós intézkedések meghozatalát annak megakadályozása érdekében, hogy ezeket a termékeket olyan megnevezésekkel hozzák forgalomba, amelyek közvetlenül a hústípusokra, darabolt hússokra, vagy hús alapú termékekre utalnak. Az európai parlamenti képviselő a következő kérdéseket tette fel:

- Úgy gondolja-e az Európai Bizottság, hogy egy ilyen problémát sürgősen meg kell oldani?

- Milyen lépéseket tesznek a félrevezető termék nevek okozta fogyasztói megtévesztés megakadályozása érdekében, és a hústermelők saját termékei étel-miszerjogi „biztonságának” megőrzéséhez?

Az étel-miszeripari vállalkozások, a zöld szervezetek, a gazdálkodók és a kutatók annak érdekében fejtenek ki lobbizási tevékenységet, hogy vitát indítsanak arról, hogy a vegetáriánus termékek jelölhetőek-e a hússal kapcsolatos kifejezésekkel, mint például „zöldség burger” vagy „vegán kolbász”. A mezőgazdák ellenérték, a környezetvédők támogatták.

A szavazás előtt Európa legnagyobb mezőgazdasági termelői szövetsége, a Copa-Cogeca azzal érvelt, hogy az ilyen típusú nevek kárt okoznak a gazdák számára és elősegítik a „félrevezető és tisztességtelen” marketinget. „Az európai állattenyésztési ágazat nem kíván ellenállni a fejlődésnek, csak egyszerűen több millió európai ember fáradozására hívjuk fel a figyelmet, a gazdálkodók és az állattenyésztési ágazat dolgozói munkáját el kell ismerni és tiszteletben kell tartani.” ... „Nem félek kijelenteni, hogy ez a kulturális 'rablás' nyilvánvaló esete.” – mondta nyilatkozatában Jean-Pierre Fleury, a Copa-Cogeca Marha- és Borjútenyésztők Munkacsoportjának elnöke. [30]. A Munkacsoport „Ceci n'est pas un steak „(ez nem steak) nevű kampányt indított. A kommunikációs kampánnyal a fogyasztókkal kapcsolatos alapvető kérdéseket kívántak felvetni az információ, kulturális örökség és a modern marketing ereje témájában, amelyek ötvözik a nagy üzleti érdekeket és értékeket, ahogyan azt a Copa Cogeca szövetség állítja.

Az Osztrák Szövetségi Gazdasági Kamara (Österreichische Bundeswirtschaftskammer) úgy tekintett a javaslatra, hogy félrevezeti az ügyfeleket, ugyanakkor a nem kormányzati szervezetek és a vegetáriánus termékek előállítói attól tartottak, hogy e termékek betiltása akadályozhatja a „fenntartható étel-miszerek felé történő változást [31]”.

A szavazás előtt a Greenpeace a Twitter közösségi oldalon ellenezte az autentikus nevek betiltására vonatkozó javaslatot. „Jelentéktelennek tűnik, de az ipari húslobbi azt akarja, hogy az Európai Parlament tiltsa be a 'zöldség burger' kifejezést, mert azt állítják, hogy zavaró” – nyilatkozta a szóvivő a következtetés előtt: „Ha nem tudják, mit jelent a 'zöldség burger' kifejezés ... akkor mit gondolnak egy 'hot dogról'?” – tette hozzá.

Az Európai Szövetség a Növényi alapú Étel-miszerekért (European Alliance for Plant-based Foods – EAPF) [32] felszólította az Európai Parlament képviselőit, hogy kérjenek külön szavazást és utasítsák el a 165. és 171. számú módosító javaslatokat. Rámutatnak, hogy ezek a módosítások hatékonyan akadályozzák az innovatív, növényi eredetű étel-miszerek fejlesztését, amelyek kulcsfontosságú szerepet játszanak abban, hogy az állampolgárok egészségesebb és fenntarthatóbb étel-miszereket tudjanak választani.

Az Európai Fogyasztók Szervezetének (Bureau Européen des Unions de Consommateurs – BEUC) egy magasrangú élmezőspolitikai tisztviselője, C. Perrin kissé meglepő módon kijelentette, hogy „a fogyasztókat semmiképpen sem zavarja össze a szójapecsenye vagy a csicseriborsó alapú kolbász, amennyiben az egyértelműen fel van tüntetve vegetáriánusként vagy vegánként”. Ezt diktálja a «józan ész» – tette hozzá [33]. A BEUC a szavazás előtt arról tájékoztatta az európai parlamenti képviselőket [34], hogy a legtöbb fogyasztót nem téveszti meg egy zöldséges „hamburger”, mindaddig, amíg egyértelműen vegetáriánusnak vagy vegánnak jelölik. Ez az egyik eredménye a BEUC által 2020-ban korábban közzétett, 12 tagszervezetével (11 országban) párhuzamosan végzett felmérésnek [35]. Azzal érveltek, hogy úgy tűnik, hogy a legtöbb fogyasztót nem aggasztja a „zöldség-hamburger” vagy „zöldség-kolbász” elnevezés mindaddig, amíg a termékek egyértelműen vegetáriánusként, illetve vegánként azonosíthatók. Átlagosan csak minden ötödik fogyasztó (20,4%) gondolja úgy, hogy a „húsos”nevek használatát soha nem szabad megengedni a vegetáriánus, illetve vegán termékek jelölésénél. A legtöbb válaszadó (42,4%) úgy véli, hogy ezeket a megnevezéseket engedélyezni kell feltéve, hogy a termékeket egyértelműen vegetáriánus, vagy vegán címkével látják el. A válaszadók negyede (26,2%) egyáltalán nem lát problémát az ilyen nevek használatával. A válaszadók 11%-a nem tud véleményt nyilvánítani.

A BEUC javaslata az Európai Parlamentben megosztotta a képviselőket, a Zöldek felszólították képviselőtársaikat, hogy szavazzanak a javaslat ellen, a hús ágazatot képviselők és az „értők” között pedig nyílt küzdelem alakult ki. Az Európai Parlament szavazása a növényi eredetű élelmiszerek terminológiájáról elvonta a figyelmet az EU legfontosabb éghajlatváltozási döntéseiről és a KAP-vitájáról (KAP – CAP – Common Agricultural Policy) [37]. Amíg a legtöbb híradás a zöldséges hamburgerekre és kolbászokra összpontosított, az EU a közös agrárpolitikával is foglalkozott. A KAP-ot már régóta bírálják amiatt, hogy hiányoznak belőle a biológiai sokféleség, és az éghajlatváltozással kapcsolatos intézkedések, ugyanakkor az EU teljes költségvetésének mintegy 30%-át fedezi, és jelentősen járul hozzá az uniós gazdálkodók jövedelméhez is.

11. A döntés

Mivel az Európai Parlament (EP) 2020 október végén megszavazta a terjedelmes közös agrárpolitika (KAP) reformcsomagját, amely magában foglalja a vegán húspótlók megnevezését, a képviselők elutasították a hússal kapcsolatos fenntartásokra irányuló javaslatokat (165. és 171. módosítás) a húst tartalmazó termékek megnevezése tárgyában. A Parlament nem fogadta el azt a jogszabályi javaslatot, amely megtiltaná a növényi alapú hús-helyettesítők a valódi húsféleségek jelölésére használt kifejezések használatát. Ez a döntés lehetővé teszi, hogy a vegetáriánus hús

helyettesítők, mint például az *Impossible Burger*, megőrizze a hústermékekre utaló neveket. A zöldség hamburger is nevezhető *burgernek*.

A képviselők elutasították azokat a javaslatokat is, amelyek szerint a steak, kolbász, csontozott hús, burger és hamburger termékeket kizárólag hús alapú terméknek ismernék el. Az EP úgy döntött, hogy a szója hamburgerek és a növényi fehérjéből készült steakek továbbra is hamburgernek vagy steaknek nevezhetők. A növényi alapú termékeknel és az értékesítésükhöz használt címkéken a jelenlegihez képest semmi sem fog változni.

A Die Presse német napilap szerint az Európai Parlamentet valószínűleg meglepte a téma iránti közérdeklődés és az egyre növekvő kritika, miszerint az EU meg akarja védeni a fogyasztókat a valóságban alig létező problémától [38]. A „zöldség hamburgerek” továbbra is „hamburgerek” maradnak az EU Parlament szavazásának köszönhetően – kommentálta az EP határozatát a BEUC [39].

A Volkskrant.nl online napilap az a megjegyzést fűzte a zöldség hamburgerek és zöldség kolbászok nevének megváltoztatásáról szóló európai parlamenti szavazáshoz, hogy valószínűleg zavart okoznak a fogyasztók körében [40].

A kolbász, a schnitzel (sült hús szelet) vagy a hamburger kifejezések kizárólag állati termékekre való fenntartásának indítványa nem nyert többséget. Néhányan Burger-Krieg (vagy Burger-War) néven emlegették a vitát, például R. Hank a Frankfurter Allgemeine Sonntagszeitung című kommentárjában. Hank szerint a vegán szurkolóknak örülniük kell a hamburger csata miatt. Megfigyelése szerint a mai társadalomban az étrend kiemelkedően politikai téma [41].

Az Európai Parlament számára azonban a „hús” lehet növényi eredetű, de a tej nem. Néhány nappal azután, hogy a parlament elutasította azokat az indítványokat, amelyek célja a hússal kapcsolatos elnevezések fenntartása a húst tartalmazó termékek számára, felszólították az EP-t, hogy fontolja meg a tej növényi helyettesítőit. A zöld lámpa után a zöldségtermékek húsára utaló kifejezésekre az Európai Parlament ehelyett szigorúbb intézkedés mellett döntött a tejtermékek megnevezéseivel kapcsolatban. A plenáris szavazáson a közgyűlés úgy határozott, hogy megerősíti a szója, mandula és más, nem állati eredetű tejből készült termékek tejként való elnevezése ellen tiltakozók álláspontját, azaz megtiltotta a növényi alapú italok tejként nevezését.

Az Európai Parlament határozata értelmében, az európai tejtermelés védelme érdekében, 2017 óta minden EU tagállamban tilos olyan neveket használni, mint a szójatej, a zabtej és hasonlóak a piacon lévő termékek jelölésén, csakúgy, mint a növényi eredetű összetevőkből készült vaj, joghurt és sajt esetén. De a legutóbbi szavazással a Parlament további szigorí-

tásról döntött, amely tiltja az „idézeteket és utáztatókat” is: például olyan kifejezések használatát, mint az „ital, mint a tej vagy a tejpótló” - olvasható az Assolatte (Associazione Italiana Lattiero Casearia – Olasz Tejipari Egyesület, Casearia) elnöke, P. Zanetti véleménye, az Il Sole 24 Ore jelentésében [42]. Tehát röviden, bár a húsipar ellenvetéseit nem hallgatták meg, az Európai Parlament határozottan támogatta a tejipar érdekét.

Az Európai Bíróság (EB) előzetes döntése kimondja, hogy a tisztán növényi termékeket főszabály szerint nem szabad olyan megnevezésekkel forgalomba hozni mint a „tej”, „tejszín”, „vaj”, „sajt” vagy „joghurt”, amely neveket az uniós jog az állati termékekre tart fenn [43]. Ugyanez vonatkozik arra az esetre is, ha ezeket az elnevezéseket pontosító vagy leíró kifejezések kísérik, amelyek az érintett termék növényi eredetét jelzik. Van azonban egy lista a kivételekről. Egy német cég vegetáriánus és vegán ételeket gyárt és forgalmaz. Különösen tisztán növényi termékeket népszerűsít és forgalmaz „Soyatoo Tofu butter”, „Növényi sajt”, „Veggie Cheese”, „Cream” és más hasonló megnevezések alatt. A tisztességtelen verseny leküzdéséért felelős német szövetség tiltó intézkedés iránti keresetet nyújtott be a vállalat ellen a németországi Trier tartományi bíróság előtt a tej és tejtermékek megnevezésére vonatkozó uniós jogszabályok megsértése miatt. Ebben az összefüggésben a regionális bíróság felkérte az Európai Bíróságot, hogy értelmezze a vonatkozó uniós jogszabályokat. Az EB megállapította, hogy a vonatkozó jogszabályok elvileg a szóban forgó marketing és reklám céljából csak az állati eredetű tej számára tartják fenn a „tej” megnevezést. Ezen kívül a jogszabályok kizárólag a tejtermékekre, azaz csak valódi tejből származó termékekre tartanak fenn olyan megnevezéseket, mint „tejszín”, „chantilly”, „vaj”, „sajt” és „joghurt”.

12. A magyar fogyasztók

A magyar nép hagyományosan hús fogyasztó nemzet. Az egy főre eső húsfogyasztás mértéke nem tartozik a legmagasabbak közé Európában, de számos hagyományos étel, például a töltött káposzta, a paprikás krumplics, a gulyásleves, a csirkepaprikás egyaránt húst tartalmaz. A hús és húskészítmények fogyasztása a magyar gasztronómiai kultúra része. Az egy főre eső éves húsfogyasztás Magyarországon 65 kg (1961-ben évente 78 kg/fő volt.) A fogyasztás 2004 és 2016 között 3,5 kg-mal nőtt [44].

A multinacionális élelmiszer-feldolgozó vállalatok és a gyorsétterem láncok a helyi piacokhoz igazítják termékeiket. Az egyik legismertebb gyorsétterem világszerte reklámozza termékeit. Ezek egy része a hús pótló termékeket népszerűsíti, például a *Vegán Burger* [45]. Ugyanakkor egy olyan hús fogyasztó országban, mint Magyarországon, a vállalat 2020 őszén a különböző tévécsatornákon aktívan népszerűsítette az „igazi húst” a „húsimádók” számára (1. ábra).

Mivel az Európai Fogyasztói Szervezet azzal érvelt (lásd fent), hogy „a fogyasztók semmiképpen sem kerülnek tévútra”, felmérésük így csak 12 országra terjedt ki, Magyarország nem volt közöttük. Figyelembe véve a magyar fogyasztóknak az élelmiszerekre vonatkozó hagyományos, kissé konzervatív megközelítését, valamint a hús szerepét az ételleikben és gasztronómiai kultúrájukban, kétséges, hogy az Európai Parlament nemrégiben hozott döntése nem eredményezne-e zavart, ha egy „*Lehetetlen Burger*” helyeznek a tányérjukra.

Szerkesztői megjegyzés: A növényi vagy laboratóriumi eredetű, hús jellegű élelmiszerek gyártásával, forgalmazásával kapcsolatban a kézirat beérkezése óta újabb események történtek, amelyekre a nyomdai átfutási idő miatt nem tudott kitérni a szerző.



1. ábra. Gyorsétterem hirdetése a magyar tévécsatornákon 2020 őszén
Figure 1. A fast restaurant advert in Hungarian TV channels during Fall 2020
(„Húsimádók” – „Meat Lovers”)

Diána Bánáti¹

Received: October 2020 – Accepted: November 2020

Veggie burgers, vegan meats?

The ruling of the European Parliament paved the way for meat substitutes with meat denominations

Keywords: meat alternatives; meat substitutes; plant-based meat; plant-based diet; lab-grown meat; cellular agriculture; veggie burger

1. SUMMARY

Our food system is no longer fit for the 21st century. The ways we grow food and process it can undermine our health, and are not fit to meet the needs of a growing global population. Cellular agriculture and plant-based alternatives are on the rise. The production of lab-grown meat is gaining momentum and attracts investors. Plant-based diets are gaining importance both for health- and environment-conscious consumers and from sustainability point of view. Demand for plant-based protein products is rapidly expanding beyond just burger analogues to new and novel products in several countries. Alternative meat products, such as ‘vegan burgers’, ‘soy meat’, ‘tofu sausage’ and others continue to evolve.

There has been an intense dispute about names of meat substitute products in the European Union. The question was whether designations like “veggie burgers” or “soy sausages” were misleading. The European Parliament decided recently, that plant-based food products should be allowed to carry names which have traditionally been used for meat of animal origin. However, for the European Parliament, “meat” can be vegetable, milk cannot. Purely plant-based products cannot, in principle, be marketed with designations such as ‘milk’, ‘cream’, ‘butter’, ‘cheese’ or ‘yoghurt’, which are reserved by EU law for animal products.

Hungarian, German, Spanish etc. consumers are traditionally meat-eaters. Eating meat and meat products is part of these countries’ culture. Taken the traditional approach of these consumers to food and the role of meat in their food and gastronomic culture, it is doubtful whether the recent decision of the European Parliament would not result in confusion once an „impossible burger” would be put on their plate.

2. Introduction – Plate and the Planet

Our food system is no longer fit for the 21st century, warned the the World Economic Forum (WEF) [1]. Food is part of our cultural identity and, at the most basic level, essential to our survival. Over the past 200 years we have seen unprecedented development of agriculture and the global food industry, which now brings many people reliable, affordable access to an extraordinary variety of foods. Yet, it is becoming increasingly clear that the ways we grow food and

process it can undermine our health, and not necessarily meets the needs of a growing global population safely. WEF states, that there are no healthy choices in an unhealthy food system. While we are increasingly encouraged to eat more responsibly, we have to acknowledge that the negative health impacts of current food production are mostly unavoidable. Whether you choose an apparently healthy salad or a burger, you are still consuming food that undermines your health and wellbeing.

¹ University of Szeged Faculty of Engineering

From an estimated 7.7 billion people worldwide in 2019, the projection of the United Nations [2], indicates that the global population could grow to around 8.5 billion in 2030, 9.7 billion in 2050, and 10.9 billion in 2100 and we need to feed those people.

3. Sustainable diet

In 2019, the EAT-Lancet Commission [3] developed the world's first scientific targets for healthy and sustainable food systems, including a "planetary health diet" with defined daily consumption ranges for each food group. A "Planetary Health Diet" is a dietary pattern, characterized by a variety of high-quality plant-based foods and low amounts of animal-based foods, refined grains, added sugars, and unhealthy fats.

Compared with current diets, this shift will require global consumption of foods such as red meat and sugar to decrease by 50%, while consumption of fruits, nuts, vegetables, and legumes must double. That said, the Commission emphasizes the importance of tailoring these targets to local situations. For example, while North American countries currently consume almost 6.5 times the recommended amount of red meat, countries in South Asia eat only half the recommended amount.

Undoubtedly, making such a radical shift to the global food system is unprecedented, and will depend on widespread, multi-sector, multi-level action [4].

4. Plant-based diets

If meats are to be replaced in our diet either for environmental, philosophical, ethical, health or other reasons, than proteins of plant origin could be targeted. Plant-based diets are an alternative to high amount of meat consumption.

Plant-based diets are gaining importance both for health- and environment-conscious consumers and from sustainability point of view (plant-based diets have been praised for their benefit to our health and the environment). There is neither an official definition nor consensus on what defines a plant-based diet. It is used to describe a variety of dietary patterns, from the Mediterranean diet to Vegetarian and Vegan diets. The descriptions of plant-based diets mainly focus on the promotion of healthy plant foods, such as fruits, vegetables, bean, pulses, nuts etc., and they do not necessarily exclude the consumption of meat and dairy products, so these are not expecting the total avoidance of products of animal origin. (Flexitarian diets emphasise the importance of eating healthy plant foods and promote a balanced diet, without excluding meat and dairy products, still emphasising the reduction of its quantity and frequency of consumption.)

Plant-based food boom expands beyond the bun [5]. Globally, 56% of plant consumers are trying to

eat more plant-based foods and beverages, pushing alternative proteins into an increasingly mainstream phenomenon. Demand for plant-based protein products is rapidly expanding beyond just burger analogues to new and novel products including alternative seafoods like shellfish and shrimp, plant-based cheeses, ready-to-eat protein snacks and more.

Plant proteins are coming to the forefront in the field of nutrition, with recent surveys highlighting the health benefits of switching to a 100% plant-based diet. But in terms of nutrition, what do consumers really know about plant proteins and their animal counterparts? Do their perceptions line up with reality? [6].

A new generation of plant alternatives to animal meat has exploded on the food scene, distinguished from their predecessors by the intent to mimic animal meat's taste and texture. A US-wide survey [7] (among 1,000 adults) was conducted at the end of 2019. To orient survey takers, the emerging food category was described as "meatless burgers, chicken, fish, sausages and other ground products that attempt to mimic the flavour and texture of animal protein but are made with only plant products." Throughout the survey, these types of foods were collectively referred to as "plant alternatives to animal meat." The survey began by asking participants what type of diet they follow and provided definitions for the following options: omnivore, vegetarian, vegetarian on some days but not all days, vegan and pescatarian. Not surprisingly, the overwhelming majority (66%) of people in the survey identified as omnivores. Nearly half (49%) of survey participants reported having tried these newer meatless products. A lower percentage of omnivores (44%) have tried a plant alternative to animal meat compared with vegetarians (72%), "sometimes" vegetarians (77%), vegans (76%) and pescatarians (75%). Having tried a plant alternative to animal meat was more common among the younger population, with those under 45 years of age being the most likely consumers (62%). While there are a variety of reasons why people have tried plant alternatives to animal meat, the top reason for doing so is liking to try new foods (41%).

There is a gap between what consumers think about the benefits of plant proteins and what plant proteins can actually provide. But what are the facts about plant-based and animal-derived proteins? A survey conducted in 2020 [8] points out, that in addition to the nutritional challenge, there is also the sensory challenge: the texture and taste of all those products are crucial for unlocking the full potential of this new market for plant-based protein. Manufacturers need to bear in mind the current barriers that are holding consumers back from taking the plunge and trying out plant-based products: price is the most significant, but taste is another of the main barriers, along with the composition of the end-product which is coming under increasing consumer scrutiny.

5. Need for meet

According to the World Resources Institute [9], between 2010 and 2050, global meat and dairy consumption is on a course to increase by nearly 70 percent, with beef consumption increasing by more than 80 percent.

The global average per capita consumption of meat and the total amount of meat consumed are rising, driven by increasing average individual incomes and by population growth. Growth rates vary across different regions, with consumption in high-income countries static or declining and in middle-income countries moderately to strongly increasing, whereas in low-income countries, meat consumption is on average low and stable. The average amount of meat consumed per person globally has nearly doubled in the past 50 years, from around 23kg in 1961 to 43kg in 2014. The increase in average individual meat consumption means total meat production has been growing at a much faster than the rate of population growth, increasing four or fivefold since 1961 [10]. Demand for meat has both an economic and cultural basis.

Food consumption will continue to expand due to population growth and higher per

capita income for most commodities with the developing world as the source of most

demand growth over the coming ten years. However, consumption of meat and fish differs significantly across regions according to dietary patterns and income levels. At a global level, total consumption of meat and fish is expected to increase by 15% over the period of 2018-2027 [11].

6. Cellular agriculture and cultivated meat

In order to transform the future of food, cellular agriculture and plant-based alternative proteins could be considered.

Cellular agriculture, the production of lab-grown meat is gaining momentum and attracts investors. The first ever cultured meat hamburger, a hamburger made of lab-grown meat (from stem-cells) was introduced in 2013 in The Netherlands. It had taken five years to develop the technology for large scale production. This early product (approx. 140 g slice) came at a cost of almost €250,000 per burger [12].

Aside from reducing the high costs associated with creating meat that has the same properties as meat from livestock, one of the biggest challenges the company will face is that of regulatory approval. In Europe, such a novel product will need to go through a rigorous „novel foods” regulatory process. This involves demonstrating the safety to the European Food Safety Authority. This process takes at least 18 months.

A San Francisco based company, Memphis Meats produces meat by harvesting it from cells instead of animals. They call it cell-based meat and marketing it as „real meat” [13]. They produce food by sourcing high-quality cells from animals, then cultivate the cells into meat by feeding them necessary nutrients (such as amino acids, sugars, trace minerals and vitamins). They are exploring obtaining cells from a variety of methods, including biopsies from living animals, eggs, fishing, and recently slaughtered animals who were already a part of the food system. They have already debuted the world’s first cell-based beef meatball, chicken and duck and are also working on other meat types.

The Israeli Aleph Farms is a food-tech startup, founded in 2017, that grows meat cuts from beef cells using a 3D tissue engineering platform. Their production method of cultivated beef steaks also relies on mimicking a natural process of muscle-tissue regeneration occurring inside the cow’s body, but under controlled conditions. They announced in October 2019, that the company had successfully grown meat on the International Space Station [14, 15] too.

7. Plant-based meat alternatives, “Impossible burgers”

In July 2016, a California-based company launched its first meat analogue product, the ‘*Impossible Burger*’, which is made from material derived from plants. Heme, or soy leghemoglobin (an oxygen-carrying heme-based compound found in certain butterfly-flowering plants; Ed.), is the ingredient said to set the Impossible Burger apart from other plant-based burgers. It adds to the flavor and color of the burger and makes it “bleed” like a beef burger does when cut. It’s a controversial ingredient in the ‘*Impossible Burger*’. Unlike the heme found in beef, the heme in the ‘*Impossible Burger*’ is genetically engineered by adding soy protein to genetically engineered yeast (*Pichia pastoris*) [16]. The company claims that making it uses 95% less land and 74% less water, and it emits about 87% less greenhouse gas than making a ground beef burger patty from cows [17].

A fast-food restaurant chain tested a vegetarian version of its type of burger. It was such a success that the chain was planning to roll the *Impossible* burger out US-wide [18].

A huge American pizza chain also joined the plant-based protein trend with a pizza topped with non-meat sausage [19]. The pizza chain was testing out the Impossible Supreme pizza – topped with a meatless sausage made by Impossible Foods – in different US states with huge success.

Other veggie burgers on the market usually contain similar ingredients. However, some contain more whole-food-based ingredients like lentils, quinoa, hemp, and black beans.

The California-based Beyond Meat [20] uses pea protein and beets to make plant-based burgers that taste like the real. Beets are used to mimic the colour of real meat. The protein comes from peas. Coconut oil and potato starch make the burgers juicy [21]. No GMOs, soy, or gluten are used by Beyond Meat. They identify molecules in plants that create a „meaty aroma and taste”.

Another burger chain started to sell a vegan burger in Germany, one of its five leading overseas markets in 2019. Nestle is making the meatless patty for it. The meatless burger is made with soy and wheat protein, and uses beet, carrot and bell pepper extracts to help create a meaty look and texture. Two years earlier [22] the company announced the launch of a burger, made with a soy patty, in Finland and Sweden.

Givaudan [23] has hailed plant-based fish products as “the next big thing” in alternative proteins. The Swiss flavor giant has unveiled its latest research paper conducted in collaboration with the University of California, Berkeley, US, highlighting the opportunities and challenges for manufacturers and future market development. While the same macro trends are driving the sector for meat substitutes, the interest in fish and shellfish alternatives reflects some of the fishing and shellfish industry’s specific challenges, explains the author.

8. Meat substitutes on the market

A vegan with high cholesterol sounds almost as paradoxical as a hamburger without meat. However, not only do both of these exist, but they both share common ancestors – Beyond Meat and Impossible Foods [24].

Alternative meat products, such as vegan burgers, soy meat, tofu sausage and others also continue to evolve, with new technologies like 3D printing and protein fermentation playing a role in driving innovation.

So plant-based meat alternatives are manifold. There are heme-based burgers (for example the Impossible Burger, using a proprietary leghemoglobin “heme” soy protein to imitate the bloodiness of a traditional beef burger), other soy-based burgers (done for decades) and other plant-protein-based burgers (some are made using pea protein as the base ingredient, instead of soy).

New plant-based „meats” on the horizon include whole-muscle products like steak and chicken breast, lunch meat, bacon and more. The dairy alternative category, an early leader in the plant-based nutrition space, is growing to encompass other formats such as yogurt, ice cream, butter, spreads and creamers. To stand out in the dairy aisle, products must deliver more protein than traditional dairy, and feature a nutritional label fortified with vitamins and minerals or functional ingredients like probiotics.

When it comes to health, 90 percent of customers purchasing plant-based products are meat-eaters who believe the products are more healthful and better for the environment [25]. Millennials, born 1981-1996, are the top consumers of plant-based meat alternatives, finds „The Future of Plant-based Snapshot” study. This generational group has adopted plant-based meat alternatives as a way to indulge sensibly while addressing their long-term health goals and animal treatment concerns. Generation Xers, born 1965-1980, are also a core consumer group of plant-based meat alternatives, and because many in this group are parents of Generation Zs, born 1997 to present, they raised their Gen Z children on plant-based beverages and foods.

New products are always a risk and new categories are even more so. But they usually attract customers. Do meat substitute processors react to a hype or a permanent category shift?

According to the research firm Euromonitor International (EI), meat substitutes recorded USD 19.5 billion sales globally in 2018 [26]. By 2023, the US meat-substitute retail market could reach \$2.5 billion, compared to \$1.4 billion last year. Globally, the market could grow from about \$18.7 billion in 2018 to \$23 billion in 2023 [27].

9. Insects

Insects as protein sources are also widely considered, however European consumers would undoubtedly perceive insects being non-conform with their diet and culture. The length of this study does not allow further discussion on this topic, but the author should draw the attention to concerns raised regarding their potential allergenicity.

10. The debate – Pros and cons

There has been an intense dispute about names of meat substitute products in the European Union.

EU member states already had the power to issue their own food labelling laws in a bid to prevent consumers from being misled. Early 2020, France passed a legislation to ban the use of meat nomenclature for vegetarian and vegan substitutes. However, the Dutch government announced in 2019 that plant-based meat producers can use terms such as “chicken” as long as it was clearly marked that it was a vegan or vegetarian product. A move to stop plant-based meat producers from using meat-related nomenclature is also spreading across in the US, with individual states considering or passing legislation. However vegan food companies and campaigners are launching legal challenges against such laws in the federal courts [28].

The names of food products were on the agenda of the European Parliament in October 2020, as part

of the debate about a major agricultural reform. The question was whether designations like “veggie burgers” or “soy sausages” were misleading. The European Parliament had to vote to decide whether plant-based food products should be allowed to carry names which have traditionally been used for meat and dairy.

„Misleading names given to meat substitute products” was the title of a question submitted by an Italian Member of the Parliament for a written answer to the European Commission in the European Parliament [29]. He claimed, that the popularity of vegetarian, vegan and other diets has created a market for new food products. Supermarket shelves are increasingly featuring vegetarian and vegan products which are packaged to look like meat and given inventive names such as ‘vegan bresaola’, ‘vegan mortadella’, and ‘vegan T-bone steak’. The Liaison Centre for the Meat Processing Industry in the European Union (CLITRAVI) has long been calling for EU measures, similar to those already in place in the dairy sector, to prevent these products from being given names which refer directly to meat types, cuts, or meat-based products. So the MEP posed the following questions: Does the Commission think that a problem of this kind should be tackled as a matter of urgency? What steps is it taking to protect consumers against the problems caused by misleading product names and to safeguard the status of meat producers’ own products?

Food businesses, green groups, farmers and researchers were all lobbying away to shape the discussion on whether vegetarian products can be called by meat-related terms, like “veggie burger” or “veggie sausage”. Farmers argued “No”. Environmentalists said “Yes”.

Before the vote, Europe’s largest farmer association Copa-Cogeca argued these types of names hurt farmers and promote “misleading and unfair” marketing. “The European livestock sector is not trying to fight this development, we simply call for the work of millions of European farmers and livestock sector workers to be acknowledged and respected,” said Jean-Pierre Fleury, chairman of the Copa-Cogeca’s working party on beef and veal, in a statement [30]. “I am not afraid to say that this is an obvious case of cultural hijacking. They launched a campaign called „ceci n’est pas un steak” (this is not a steak). The communication campaign is aiming to raise fundamental questions about consumer information, cultural heritage and the power of modern marketing, which blithely amalgamates big business interests and values, as Copa Cogeca states.

The Austrian Federal Economic Chamber viewed the proposal as misleading customers, while NGOs and producers of vegetarian products feared that a ban on these product names could hinder the “change toward sustainable food [31].

Prior to the vote, Greenpeace took to Twitter to oppose the proposal to ban the names. “Seems very petty, but the industrial meat lobby wants the European Parliament to ban the word ‘veggie burger’ because they say it’s confusing,” the tweet said before concluding: “If they’re confused by the word ‘veggie burger’... what do they think a ‘hot dog’ is? – he added.

The European Alliance for Plant-based Foods (EAPF) [32] called on Members of the European Parliament to request a separate vote on and reject Amendments 165 and 171. They point out, that these amendments would strongly hamper the further development of innovative, plant-based foods that have a key role to play in enabling citizens to make healthier and more sustainable food choices.

To somewhat surprisingly, a senior food policy officer, C. Perrin at the European Consumer Organization (in French: Bureau Européen des Unions de Consommateurs – BEUC) stated, that “Consumers are in no way confused by a soy steak or chickpea-based sausage, so long as it is clearly labelled as vegetarian or vegan.” It’s “common sense”, she said [33]. BEUC had informed MEPs [34] ahead of the vote that most consumers are not confused by a veggie ‘burger’, so long as it is clearly labelled as vegetarian or vegan. This is one of the findings of a survey BEUC published [35] earlier in 2020 with 12 of its member organisations (conducted in 11 countries in parallel). They argued, „that most consumers do not appear to be concerned about the naming of veggie ‘burgers’ or ‘sausages’, as long as the products are clearly identifiable as vegetarian or vegan. On average, only 1 in 5 consumers (20.4%) think the use of ‘meaty’ names should never be allowed on vegetarian or vegan products. Most respondents (42.4%) believe these names should be permitted provided that the products are clearly labelled as vegetarian or vegan. In addition, 1 in 4 respondent (26.2%) does not see any problem at all with using such names, and 11% have no opinion.”

The proposal divided MEPs in the European Parliament, Greens calling their fellow MEPs to vote against the proposal, others painted the picture of open war between meat lobbyists and those who „get it” [36]. The European Parliament vote on the terminology of plant-based food products stole attention from some of the EU’s most important climate decisions, from the CAP discussions [37]. While most headlines focused on veggie burgers and sausages, the EU also addressed the Common Agricultural Policy. CAP has long been criticised for being lacking in terms of both biodiversity and climate action, and as it covers about 30% of the total EU budget, it also contributes greatly to EU farmers’ income.

11. The decision

As the European Parliament (EP) voted on the mammoth Common Agricultural Policy (CAP) reform package at the end of October 2020, including the

denomination of vegan meat substitutes, MEPs rejected the proposals (Amendments 165 and 171) seeking to reserve meat-related names for products containing meat. The Parliament said yes, in a decisive vote against a measure that would ban plant-based meat alternatives from being referred to by the names of their meat counterparts. This will allow vegetarian meat alternatives, like the Impossible Burger, to retain meat-like names. A veggie burger can be called burger.

MEPs also rejected proposals to recognise steak, sausage, escalope, burger and hamburger as exclusively meat-based products. The EP decided that soy hamburgers and steaks made from vegetable proteins can continue to be called burgers or steaks. Nothing will change for plant-based products and the labels used for their sale.

According to Die Presse, the European Parliament was likely surprised by the public interest in this issue and the growing criticism that the EU wants to protect consumers from a problem that barely exists in reality [38]. ‘Veggie burgers’ to remain ‘burgers’ thanks to EU Parliament vote” – this is how BEUC commented the decision of the EP [39].

Volkskrant.nl commented [40] on the vote in the European Parliament to change the name of veggie burgers and sausages, as they allegedly create confusion among consumer.

The motion to reserve the terms sausage, schnitzel or hamburger exclusively for animal products did not find a majority. Some referred to the debate as the Burger-Krieg (or Burger-War), such as R. Hank in a commentary in Frankfurter Allgemeine Sonntagszeitung. According to Mr Hank, vegan supporters should rejoice over the burger battle. He observes that diet is eminently a political topic in today’s society [41].

However, for the European Parliament, “meat” can be vegetable, milk cannot. A few days after rejecting the proposals seeking to reserve meat-related names for products containing meat, the EP was called to deliberate on the vegetable alternatives of milk. After the green light for the terms referring to meat for vegetable products, the European Parliament has instead decided for a stricter measure regarding the denominations of dairy products. With a vote of the plenary assembly, the assembly decided to reiterate the opposition to the use of the name milk for products based on soy, almond and other derivatives of non-animal origin.

Since 2017, with the decision of the European Parliament to protect milk production in Europe, it is forbidden in all EU countries to use names such as soy milk, oat milk and the like on the labels of products on the market, just as the names of butter, yogurt or cheese associated with ingredients of plant origin. But with the recent vote, Parliament has decided on a

further tightening that also prohibits “evocations and imitations: for example, the use of expressions such as a drink such as milk or milk substitute”, reads the words of the president of Assolatte (Associazione Italiana Lattiero Casearia), P. Zanetti, reported by Il Sole 24 Ore [42]. In short, while the reasons for the meat industry have not been heard, the European Parliament has maintained a hard line on the protections for the milk industry.

A preliminary ruling of the European Court of Justice states, that purely plant-based products cannot, in principle, be marketed with designations such as ‘milk’, ‘cream’, ‘butter’, ‘cheese’ or ‘yoghurt’, which are reserved by EU law for animal products [43]. The same is true if those designations are accompanied by clarifying or descriptive terms indicating the plant origin of the product concerned. However, there is a list of exceptions. The German company TofuTown produces and distributes vegetarian and vegan foods. In particular, it promotes and distributes purely plant-based products under the designations ‘Soyatoo Tofu butter’, ‘Plant cheese’, ‘Veggie Cheese’, ‘Cream’ and other similar designations. A German association, responsible for combatting unfair competition, brought an action against TofuTown for a prohibitory injunction before the Regional Court, Trier, Germany, because of the infringement of the EU legislation on designations for milk and milk products. In that context, the Regional Court asked the Court of Justice to interpret the relevant EU legislation. The Court observed that, in principle, for the purposes of the marketing and advertising in question, the relevant legislation reserves the term ‘milk’ only for milk of animal origin. In addition, that legislation reserves designations like ‘cream’, ‘chantilly’, ‘butter’, ‘cheese’ and ‘yoghurt’ solely for milk products, that is products derived from milk.

12. Hungarian consumers

Hungarian consumers are traditionally meat-eaters. The meat consumption per capita is not amongst the highest ones in Europe, but several traditional dishes (such as stuffed cabbage (töltött káposzta), (potato casserole) paprikás krumpli, Goulash soup (gulyásleves), Chicken paprika (csirke paprikás) all contain meat. Eating meat and meat products is part of the Hungarian gastronomic culture. The annual Hungarian meat consumption per capita is 65 kg. (It used to be 78 kg/person annually in 1961.) The consumption increased by 3.5 kg between 2004 and 2016 [44].

Multinational food processor companies and fast food chains do adapt their products to local markets. One of the best-known fast food restaurant system has world-wide adverts. Some of those promote meat replacement products, such as *Veggie Burger* [45]. However, in a country of meat-eaters, like Hungary, the company actively promoted „real meat” for „meat lovers” (*húsimádók*) during the Fall of 2020 in various TV channels (**Figure 1.**).

As the European Consumer Organisation argued (see above) that „consumers are in no way confused”, their survey only covered 12 countries, excluding Hungary. Taken the traditional approach of Hungarian consumers to food and the role of meat in their diet and culture, it is doubtful whether the recent decision of the European Parliament would not result in confusion once an „impossible burger” would be put on their plate.

Editorial Note: *Since the arriving of the manuscript, new events have taken place in the topic of the production and distribution of meat-type foods of plant or laboratory origin, which the author could not cover due to the printing turnaround time.*

13. References

- [1] WEF (2020): Our food system is no longer fit for the 21st century. Here are three ways to fix it. World Economic Forum. 24 Jan 2019. Ellen MacArthur. <https://www.weforum.org/agenda/2019/01/how-to-build-a-circular-economy-for-food/> (Hozzáférés / Aquired: 02.16.2020.)
- [2] UN (2019): World Population Prospects 2019. New York, 2019. ISBN: 978-92-1-148316-1. eISBN: 978-92-1-004235-2. https://population.un.org/wpp/Publications/Files/WPP2019_Highlights.pdf (Hozzáférés / Aquired: 02.21.2020.)
- [3] Willett W, Rockström J, Loken B, Springmann M, Lang T, Vermeulen S, et al. (2019): Food in the Anthropocene: the EAT–Lancet Commission on healthy diets from sustainable food systems. *The Lancet*. 2019 Jan 16.
- [4] Harvard School of Public Health (2020): The Nutrition Source – Sustainability – Plate and the Planet. <https://www.hsph.harvard.edu/nutritionsource/sustainability/plate-and-planet/#:~:text=Defining%20a%20%E2%80%9CPlanetary%20Health%20Diet%E2%80%9D&text=This%20dietary%20pattern%E2%80%94characterized%20by,%2C%20traditions%2C%20and%20dietary%20preferences.> (Hozzáférés / Aquired: 06.05.2020.)
- [5] ADM (2020): Top Five Global Trends that will Shape the Food Industry in 2021. *Nutraceuticals Now*. Wednesday, 28 October, 2020. <https://www.nutraceuticalsnow.com/articles/2020/10/28/top-five-global-trends-will-shape-food-industry-2021/>.
- [6] H. Defert (2020): Animal vs. plant-based proteins: consumer insights open up new markets. Sept. 17, 2020. <https://www.linkedin.com/pulse/animal-vs-plant-based-proteins-consumer-insights-open-hubert-defert/> (Hozzáférés / Aquired: 10.02.2020.)
- [7] IFIC (2019): Consumer Survey on Plant Alternatives to Meat Shows That Nutrition Facts Are More Influential Than the Ingredients List. *Food Insight*. JANUARY 30, 2020. <https://foodinsight.org/consumer-survey-plant-alternatives-to-meat/> (Hozzáférés / Aquired: 04.09.2020.)
- [8] H. Defert (2020): Animal vs. plant-based proteins: consumer insights open up new markets. Sept. 17, 2020. <https://www.linkedin.com/pulse/animal-vs-plant-based-proteins-consumer-insights-open-hubert-defert/> (Hozzáférés / Aquired: 10.12.2020.)
- [9] WRI (2020): Without Changing Diets, Agriculture Alone Could Produce Enough Emissions to Surpass 1.5°C of Global Warming. World Resources Institute. October 17, 2018. <https://www.wri.org/blog/2018/10/we-cant-limit-global-warming-15c-without-changing-diets> (Hozzáférés / Aquired: 09.02.2020.)
- [10] H.C.J. Godfray et al. (2018): Meat consumption, health, and the environment. *Science*. Vol. 361, Issue 6399, 20 Jul 2018. DOI: 10.1126/science.aam5324. <https://science.sciencemag.org/content/361/6399/eaam5324> (Hozzáférés / Aquired: 10.02.2019.)
- [11] OECD-FAO (2018): OECD-FAO Agricultural Outlook 2018-2027. OECD, 03 Jul 2018. OECD Publishing, Paris/Food and Agriculture, Organization of the United Nations, Rome. https://doi.org/10.1787/agr_outlook-2018-en. https://www.oecd-ilibrary.org/agriculture-and-food/oecd-fao-agricultural-outlook-2018-2027/world-meat-projections_agr_outlook-2018-table111-en (Hozzáférés / Aquired: 10.02.2019.)
- [12] L. Cowen (2020): Huge €47M Series B Boost for Mosa Meat’s Cell-Based Burgers. *Labiotech.eu*. 02/10/2020. <https://www.labiotech.eu/food/mosa-meat-alternative/> (Hozzáférés / Aquired: 10.02.2020.)
- [13] <https://www.memphismeat.com/> (Hozzáférés / Aquired: 09.07.2020.)
- [14] CNN (2019): October 8, 2019. This company just grew meat in space for the first time. <https://edition.cnn.com/2019/10/08/health/aleph-farms-space-meat-intl-hnk-scli/index.html> (Hozzáférés / Aquired: 01.19.2020.)
- [15] Cision (2019): Aleph Farms Successfully Completed the First Slaughter-free Meat Experiment in Space. *Cision. PR Newswire*. 07 Oct, 2019. <https://www.prnewswire.com/il/news-releases/aleph-farms-successfully-completed-the-first-slaughter-free-meat-experiment-in-space-300932806.html> (Hozzáférés / Aquired: 11.25.2019.)
- [16] Y. Jin et al. (2018): Evaluating Potential Risks of Food Allergy and Toxicity of Soy Leghe-

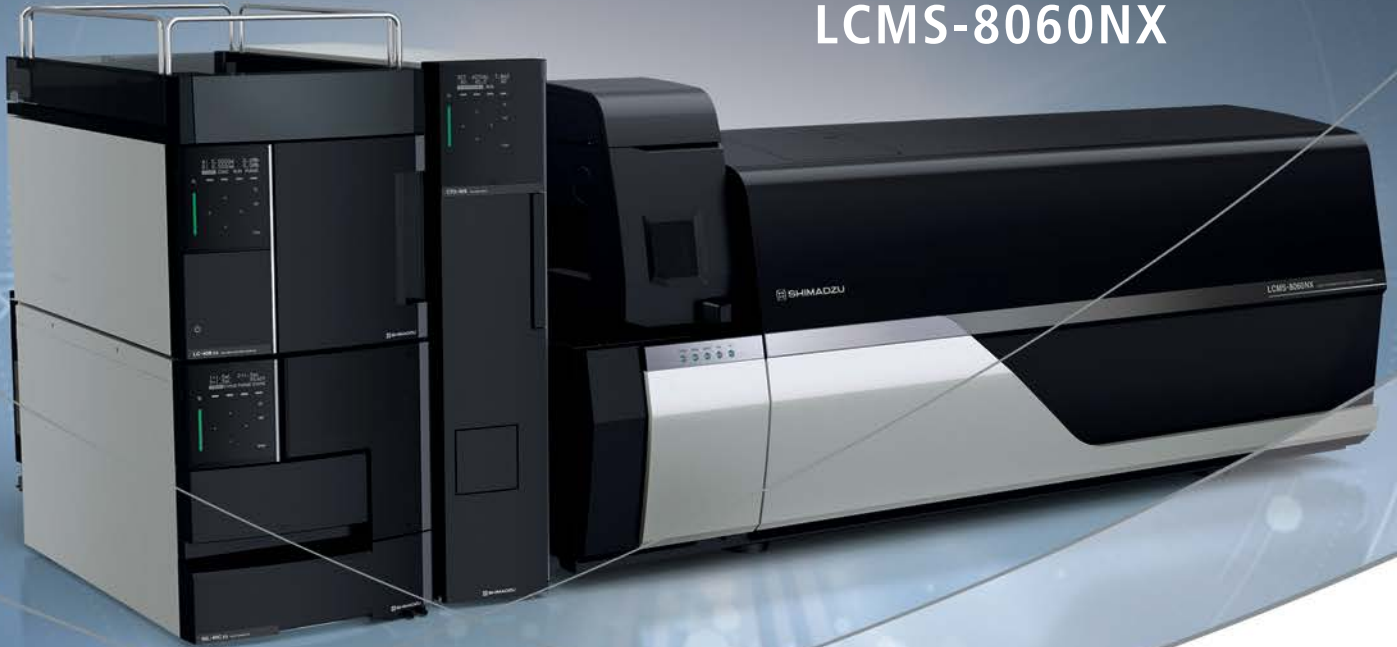
moglobin Expressed in *Pichia pastoris*. *Mol Nutr Food Res*. 2018 Jan; 62(1): 1700297. Published online 2017 Oct 17. doi: 10.1002/mnfr.201700297

- [17] Impossible (2020): <https://buy.impossible-foods.com/> (Hozzáférés / Aquired: 10.15.2020.)
- [18] CNN (2019): Burger King plans to roll out Impossible Whopper across the United States. *CNN Business*. April 29, 2019. <https://edition.cnn.com/2019/04/29/business/burger-king-impossible-rollout/index.html> (Hozzáférés / Aquired: 12.14.2019.)
- [19] abc15 (2019): Little Caesars is testing out an Impossible pizza. abc15 Arizona. May 20, 2019. <https://www.abc15.com/news/national/little-caesars-is-testing-out-an-impossible-pizza>; abc15 Arizona. May 20, 2019 (Hozzáférés / Aquired: 10.11.2020.)
- [20] Beyond Buzz (2020): <https://www.beyondmeat.com/about/press/> (Hozzáférés / Aquired: 11.03.2020.)
- [21] Insider Presents (2018): Beef patties made from plants. July 19, 2018. Video. Facebook. <https://www.facebook.com/insiderpresents/videos/1033777520107554/> (Hozzáférés / Aquired: 10.16.2018.)
- [22] CNN (2019): McDonald's joins the meatless burger trend in one of its biggest markets. May 8, 2019. <https://edition.cnn.com/2019/05/07/business/mcdonalds-meatless-burger-germany/index.html> (Hozzáférés / Aquired: 12.02.2019.)
- [23] FoodIngredientsFirst: Givaudan tips plant-based fish to make waves in alternative proteins. 17 Sep 2020.
- [24] CNBC (2019): Beyond Meat, Impossible Foods and the plant-based burger of the summer. Here are the diet facts you need to know. JUL 4 2019. <https://www.cnbc.com/2019/07/04/beyond-meat-impossible-foods-and-the-diet-truth-of-the-summer-burger.html> (Hozzáférés / Aquired: 02.18.2020.)
- [25] NPD (2019): Plant-based Foods: Will They stay or Will They Go? October 28, 2019. <https://www.npd.com/wps/portal/npd/us/news/press-releases/2019/plant-based-foods-will-they-stay-or-will-they-go/> (Hozzáférés / Aquired: 12.02.2019.)
- [26] EI (2019): Meat Substitutes Recorded USD 19.5 Billion Sales Globally in 2018. *Euromonitor International*. 05/17/2019. <https://blog.euromonitor.com/meat-substitutes-recorded-usd-19-5-billion-sales-globally-in-2018/> (Hozzáférés / Aquired: 12.02.2019.)
- [27] EI (2019): The Future of Meat. Strategy Briefing. Aug. 2019. In: abc15 (2019): Little Caesars is testing out an Impossible pizza. abc15 Arizona. May 20, 2019. <https://www.abc15.com/news/national/little-caesars-is-testing-out-an-impossible-pizza> (Hozzáférés / Aquired: 11.10.2019.)
- [28] Financial Times (2020): Debate over vegan 'sausages' and 'burgers' heats up ahead of EU vote. Emiko Terazono in London and Mehreen Khan in Brussels. October 18 2020. <https://www.ft.com/content/f583d3f2-38a2-4f7a-9538-9899971413ec> (Hozzáférés / Aquired: 10.06.2020.)
- [29] EP (2020): Misleading names given to meat substitute products. Parliamentary questions. 7 June 2017. Question for written answer E-003755-17. https://www.europarl.europa.eu/doceo/document/E-8-2017-003755_EN.pdf (Hozzáférés / Aquired: 10.17.2020.)
- [30] Copa Cogeca (2020): Enough with surrealistic meat and dairy denominations! European livestock organisations are launching a campaign against the misuse of meat denominations. Press Release. 06/10/2020. (Hozzáférés / Aquired: 10.17.2020.)
- [31] Dispute about names of meat substitute products. Dispute about names of meat substitute products / Burger für mündige Bürger km-Kleine-Zeitung-AT , Page: 16-17 , Info: by Andreas Lieb, 21 Oct 2020, 00:00. EU will Veggie-Burgern heute eins überbraten km-Heute-Austria-AT, Page: 1,6 , 21 Oct 2020, 00:00. EU stimmt über Verbot von „Veggie-Burger“ ab km-Wiener-Zeitung-AT, Page: 11 , 21 Oct 2020, 00:00. EU-Abstimmungsmarathon rund um den Veggieburger km-Kronen-Zeitung-AT , Page: 17, Info: by Matthias Lassnig , 21 Oct 2020, 00:00. km-DNS-AT - 21 Oct 2020 - Summary
- [32] EAFP (2020): The European Alliance for Plant-based Foods. https://plantbasedfoodalliance.eu/wp-content/uploads/2020/10/Joint-Letter-to-MEPs-Aligning-CMO-with-Farm-to-Fork_8-October-2020.pdf (Hozzáférés / Aquired: 10.15.2020.)
- [33] NPR (2020): Veggie Burgers Can Be Called Burgers, European Parliament Says. Interview with Camille Perrin. October 23, 2020 5:51 PM ET <https://www.npr.org/2020/10/23/927278172/veggie-burgers-can-be-called-burgers-european-parliament-says?t=1604079302917> (Hozzáférés / Aquired: 09.28.2020.)
- [34] BEUC (2020a): Plenary vote on meat and dairy denominations for plant-based products. 14 October 2020. Ref.: BEUC-X-2020-095/CPE/cm. https://www.beuc.eu/publications/beuc-x-2020-095_plenary_vote_on_meat_and_dairy_denominations_for_plant-based_products.pdf (Hozzáférés / Aquired: 09.04.2020.)

- [35] BEUC (2020b): One bite at a time: consumers and the transition to sustainable food, An analysis of a survey of European consumers on attitudes towards sustainable food, June 2020. <https://www.beuc.eu/publications/one-bite-time-consumers-and-transition-sustainable-food> (Hozzáférés / Aquired: 09.04.2020.)
- [36] Proposal to change terminology for plant-based food products, news and opinion. 1) Soy sausages can become soy tubes - the EU proposal awakens criticism / Sojakorv kan bli sojatub – EU-förslaget väcker kritik km-Svenska-Dagbladet-SE , Page: 14 , 22 Oct 2020, 00:00. 2) Products should be what they claim to be / Produkterna ska vara vad de utger sig för km-Aftonbladet.se-SE, 21 Oct 2020, 00:00. km-DNS-SE - 22 Oct 2020 – Summary. (Hozzáférés / Aquired: 10.27.2020.)
- [37] Veggie burger discussion stole attention from CAP (analysis). Was the debate on the „vegetarian burger” a distraction? / Var debatten om ”vegoburgaren” en distraktion? km-Svenska-Dagbladet-SE , Page: 28 , 30 Oct 2020, 00:00. km-DNS-SE - 30 Oct 2020 - Summary
- [38] No EU ban for „tofu sausage” and „veggie burgers”. No EU ban for „tofu sausage” and „veggie burgers” / Kein EU-Verbot für „Tofuwurst“ und „Veggieburger“ km-Presse-Austria-AT , Page: 1,9, Info: by Oliver Grimm, 24 Oct 2020, 01:00. „Veggie burger” will survive / „Veggieburger“ wird überleben. km-Wiener-Zeitung-AT, Page: 10 , Info: by keine Autorenangabe, 24 Oct 2020, 01:00. Veggie-Burger darf weiter so heißen km-Kurier-AT , Page: 9, 24 Oct 2020, 00:00. Auf EU-Ebene ging es um die Wurst km-Standard-AT , Page: 29 , 24 Oct 2020, 00:00. Veggie-Wurst und Ärger über Abstimmung km-Kleine-Zeitung-AT , Page: 15, 24 Oct 2020, 00:00. Veggie-Burger bleibt km-Kronen-Zeitung-AT, Page: 1,18, Info: by Martina Münzer, 24 Oct 2020, 00:00. Veggie-Burger und Sojaschnitzel sind gerettet km-Salzbürger-Nachrichten-AT, Page: 21, Info: by Monika Graf, 24 Oct 2020, 00:00. km-DNS-AT - 26 Oct 2020 – Summary.
- [39] BEUC (2020c): ‘Veggie burgers’ to remain ‘burgers’ thanks to EU Parliament vote. 28 October 2020. <https://www.beuc.eu/press-media/news-events/%E2%80%98veggie-burgers%E2%80%99-remain-%E2%80%98thanks-eu-parliament-vote> (Hozzáférés / Aquired: 10.28.2020.)
- [40] EU voted on „meat names”. km-DNS-NL - 22 Oct 2020 - Summary
- [41] R. Hank (2020): European Parliament reaches decision on vegan meat substitutes. *Burger War / Burger-Krieg* km-Frankfurter-Allgemeine-Zeitung-DE , Page: 20. km-DNS-DE - 01 Nov 2020 - Summary
- [42] <https://www.sportsgaming.win/2020/10/for-european-parliament-meat-can-be.html> (Hozzáférés / Aquired: 10.28.2020.)
- [43] ECJ (2020): Purely plant-based products cannot, in principle, be marketed with designations such as ‘milk’, ‘cream’, ‘butter’, ‘cheese’ or ‘yoghurt’, which are reserved by EU law for animal products. Court of Justice of the European Union. Press Release No 63/17 Luxembourg, 14 June 2017. Judgment in Case C-422/16. <https://curia.europa.eu/jcms/upload/docs/application/pdf/2017-06/cp170063en.pdf> (Hozzáférés / Aquired: 10.12.2020.)
- [44] AKI (2018): Sertésinformációs rendszer. Agrárgazdasági Kutatóintézet. <https://sertes-info.aki.gov.hu/publikaciok/kuldes/a:638/Az+egy+f%C5%91re+jut%C3%B3+h%C3%BAsfogyaszt%C3%A1s+alakul%C3%A1sa+Magyarorsz%C3%A1gon> (Hozzáférés / Aquired: 11.03.2019.)
- [45] McDonalds (2020): Veggie Burger. <https://www.mcdonalds.com/kw/en-kw/product/veggie-burger.html> (Hozzáférés / Aquired: 11.07.2020.)

Folyadékkromatográf
Tömegspektrométer

LCMS-8060NX



Fokozott teljesítmény

Érzékenység és robusztusság

A Shimadzu a hármas kvadrupól tömeg spektrométerek fejlesztése során szerzett tapasztalatokat felhasználva megalkotta az új LCMS-8060NX készüléket. A készülék analitikai intelligencia funkciói növelik a felhasználás hatékonyságát és javítják a termelékenységet. A világszínvonalú érzékenység ultragyors detektálással párosul. Az LCMS-8060NX készülék alkalmazható módszerfejlesztésre és rutin analízisre egyaránt, gyógyszeripari, klinikai, környezetvédelmi és élelmiszerbiztonsági mérésekre.

Világszínvonalú érzékenység

ami az új fűtött ESI ionforrásnak köszönhető

Sebesség kompromisszumok nélkül

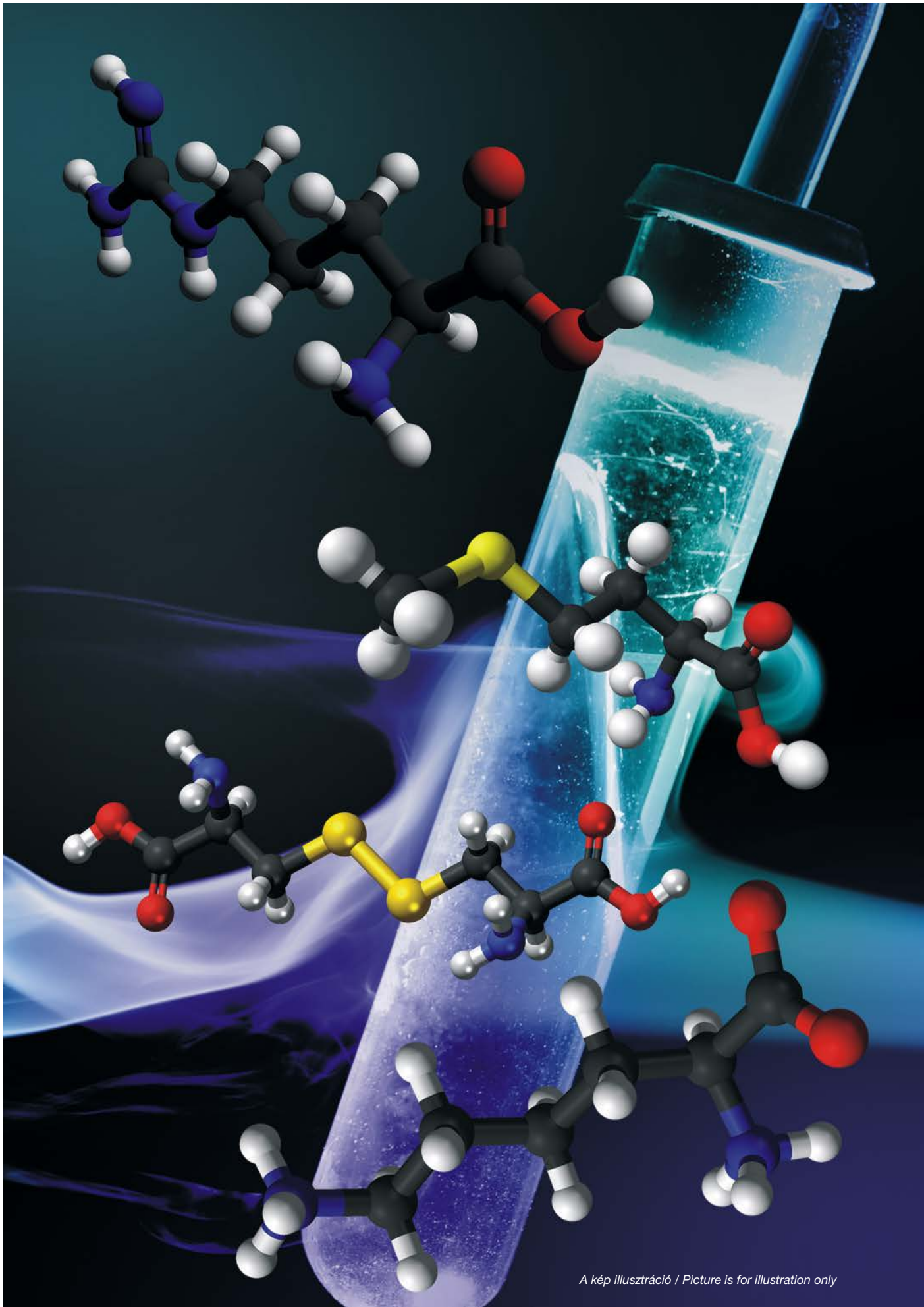
az adatfelvétel páratlan pásztázási sebességgel és a legkisebb polaritás váltási idővel valósul meg

Kiváló robusztusság

az új UF-Qarray II és QF-Lens II technológiáknak, valamint az új IonFocus egységnek köszönhetően egyensúlyban van a robusztusság és az érzékenység

Automatizált munkafolyamat

az analízistől az adatfeldolgozásig, ami javítja a hatékonyságot, a felhasználhatóságot és a produktivitást



A kép illusztráció / Picture is for illustration only

Kiss Dóra^{1,3}, Juhászné Tóth Réka^{1,3}, Zurbó Zsófia^{1,4}, Csapó János^{1,2}

Érkezett: 2020. január – Elfogadva: 2020. március

Élelmiszerek aminosav összetételének meghatározása fotometriás módszerekkel, 2. rész - A metionin, a cisztin, a lizin és az arginin meghatározása

Kulcsszavak: aminosavak meghatározása, fehérje hidrolízis, aminosavak színreakciói, fotometria, metionin, cisztin, cisztein, lizin, arginin

1. ÖSSZEFOGLALÁS

Az élelmiszerek aminosav tartalmának fotometriás meghatározásáról szóló összefoglaló közleményünk második részében két esszenciális (metionin, lizin) és két félig esszenciális aminosav (cisztin, arginin), az irodalomban közölt meghatározási módszereit ismertetjük. A két kéntartalmú aminosav szelektív meghatározását az teszi lehetővé, hogy úgy a metionin metil-merkaptó csoportja, mint a cisztin redukciójával képződött cisztein szulfhidril csoportja olyan speciális származékképzési reakciókba vihetők, amelyek csak ezekre az aminosavakra jellemzők. Ugyanez elmondható a lizin ϵ -amino csoportjáról és az arginin guanidin-csoportjáról is, amelyekkel speciális színreakciókat létrehozva lehetővé válik az érintett aminosavak egyedi meghatározása.

A metionin meghatározására a legalkalmasabb reakció az, amelynek során a metionin katalizálja a platina és palládium komplexek elszíneződését, amelyből következtetni lehet a metionin mennyiségére. Megfelelő körülmények között a reakciót a szerves szulfidok és a cisztin sem zavarják. A cisztin-, cisztein-meghatározás első lépése a cisztin redukciója ciszteinné, amelyet a cisztein és a származékképző reagens – leggyakrabban a 5,5'-ditio-bis-(2-nitro-benzoészav) – között lezajló reakció követ. A mennyiségi meghatározást a keletkezett színes vegyület fotometriás mérésével lehet elvégezni. A lizin esetében a lizin szabad ϵ -amino csoportját reagáltatják a származékképzővel, leggyakrabban az 1-fluoro-2,4-dinitro-benzollal, majd mérik a színintenzitást. Az arginin esetében leggyakrabban a guanidin-csoport és az α -naftol valamint nátrium hipobromid közti reakció a meghatározás alapja.

2. Bevezetés

A fehérjeépítő aminosavak közül az ember számára a metionin és lizin esszenciális, a cisztein és az arginin pedig félig esszenciális aminosav, mert a ciszteint egy esszenciális aminosavból, a metioninból szervezetünk képes előállítani, az arginint pedig a szervezet

ugyan elő tudja állítani, de bizonyos fiziológiás körülmények hatására esszenciálissá válhat a szervezet számára. A lizin és a metionin élelmiszer-alapanyagaink két limitáló aminosava, ezért az élelmiszerek tápértékének meghatározásakor, a fehérje biológiai értékének számolásakor, feltétlenül ismerni kell e két aminosav mennyiségét.

¹ Debreceni Egyetem, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar, Élelmiszertechnológiai Intézet

² SAPIENTIA Erdélyi Magyar Tudományegyetem, Csíkszeredai Kar, Élelmiszertudományi Tanszék

³ Debreceni Egyetem, Állattenyésztési Tudományok Doktori Iskola

⁴ Debreceni Egyetem, Táplálkozás- és Élelmiszertudományi Doktori Iskola

A cisztin és cisztein az élelmiszer-fehérjékben csak kis koncentrációban fordul elő, ezért mennyiségüket az összes aminosav jelenlétében nehéz meghatározni. Ezen túlmenően mindkét aminosav érzékeny az oxidációra, ezért a műszeres analitikai technikákkal általában oxidáció után, ciszteinsav formában határozzák meg őket. A cisztein szulfhidril csoportja reaktívabb, mint a diszulfid híd a cisztinben, ezért a meghatározás elengedhetetlen lépése a redukció, melynek során a cisztin ciszteinné alakul, így a cisztin ciszteinként határozható meg. Az arginin az élelmiszer-fehérjékben az ember szükségletéhez viszonyítva általában optimális mennyiségben fordul elő, de a fiatalabb korcsoportoknál, illetőleg bizonyos betegségekben szenvedő egyének számára esszenciálissá válhat, ezért fontos mennyiségének meghatározása [2, 9, 12, 18, 33].

Az élelmiszerek aminosav-összetételét a legtöbb laboratóriumban ioncserés oszlopkromatográfiával (IEC), vagy annak elvén működő automatikus aminosav-analizátorral [11, 13, 17, 21], illetve nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával (HPLC) határozzák meg [13, 18]. A szükséges készülékek beszerzése és működtetése azonban igen költséges, melyet egy kisebb laboratórium nem engedhet meg magának. Esetenként nincs is szükség az összes aminosav meghatározására, ezért felesleges lehet a költséges nagyműszeres technikákkal az összes aminosavat egymástól elválasztani, majd mennyiségileg meghatározni, elég lehet egy vagy két esszenciális, esetleg limitáló aminosav koncentrációjának mérése. Vizsgálataink célja ezért olyan fotometriás módszerek kidolgozása, melyekkel a fehérjék metionin-, cisztin-, lizin- és arginin-tartalma egyszerűen, nagyműszerek alkalmazása nélkül is meghatározható. Ilyen módszerek alkalmazásával a nagyműszerekkel nem rendelkező laboratóriumokban is lehetővé válhat az esszenciális, ill. féligesszenciális aminosavak mérése. Dolgozatunkban a metionin, a cisztin, a lizin és az arginin fotometriás meghatározásával kapcsolatos, az irodalomban közölt módszerekből készítettünk egy összeállítást.

2.1. A fehérjék hidrolízise

A fehérjék aminosav összetételének meghatározása előtt a fehérjéket szabad aminosavakká kell hidrolizálni. A fehérje hidrolízis nemzetközileg elfogadott módszerét Moore és Stein [26] dolgozták ki, melynek során élelmiszerek esetében a minta fehérjetartalmától függően 20-200 mg anyagot mérnek be, és a hidrolízist 6 M sósavval végzik 110 ± 1 °C-on, 24 órán át. A hidrolízis előtt gondoskodni kell az oxigén teljes eltávolításáról, amit a lefagyasztott folyadék feletti tér evakuálásával, nitrogéngázzal való átöblítéssel, vagy e kettő kombinációjával lehet elérni. A hidrolízis optimális hőmérséklete 110 ± 1 °C, amelynek ingadozása kerülendő, ugyanis alacsonyabb hőmérsékleten (105 °C) végzett hidrolíziseknél a peptidkötések felbomlása már nem kvantitatív, magasabb hőmérsékleten pedig az érzékenyebb aminosavak bomlásával kell

számolni. Hidrolízis után a sósavat rotációs vákuumdesztillálóval vagy liofilizációval távolítják el.

3. A fehérje aminosav-összetételének meghatározása fotometriás módszerekkel

3.1. A metionin fotometriás meghatározása

A legegyszerűbben alkalmazható nitroprusszid-nátriumos módszert McCarthy és Sullivan [25] írták le a metionin fotometriás meghatározására, melynek érzékenysége azonban gyenge, és a színreakciót a hisztidin és a triptofán jelenléte is zavarja. A zavaró hatást a glicin feleslegben való adagolásával ki lehet küszöbölni, és a módszert automatikussá lehet fejleszteni. Az eljárás során 5 ml tesztoldathoz 1 ml 14,3 M nátrium-hidroxid oldatot, 1 ml 1%-os glicin oldatot, 0,3 ml 10%-os nitroprusszid-nátrium oldatot adtak, miközben az elegyet minden alkalommal összekeverték. 5-10 percre 35-40 °C-os vízfürdőbe helyezték, ezt követően két percre nulla °C-os víz-jég keverékével lehűtötték, és állandó keverés mellett 5 ml sósav-foszforsav elegyet adtak hozzá (8 térfogat koncentrált sósav és 1 térfogat 85%-os foszforsav). Intenzív keverést követően az elegyet vízben lehűtötték, majd 5-10 percen keresztül szobahőmérsékleten tartották. A metionin kalibráló sorozatát is hasonló módon készítették. A tömény nátrium-hidroxid oldat alkalmazásával elérték, hogy a glicin és a hisztidin nem adott színreakciót, a sósav és a foszforsav együttes alkalmazása pedig tisztább színű oldatot eredményezett, mint a foszforsav hozzáadása nélküli származékképzés. A minták abszorbanciáját, 520 és 580 nm-hullámhossz tartományban mérték.

A reakció specifikus a metioninra, ugyanis a többi aminosav ilyen körülmények között nem képez színes vegyületet. Ugyanakkor nem adnak reakciót a metionin oxidált származékai, valamint a homocisztein, a cisztein és a cisztin, és nem ad reakciót a triptofán sem, ha a savat hidegen adják a reakcióelegyhez.

Pieniazek és mtsai. [29] a metionint nátrium-nitráttal és trinátrium-pentaciano-aminoferráttal ecetsavas közegben reagáltatták. A reakciót a cisztin és a cisztein nem zavarja, a hisztidin zavarását pedig pH=1,5-ös glicin pufferrel ki lehet küszöbölni. A módszer érzékenysége itt sem túl nagy, ennek ellenére a színreakcióra alapozva egy átfolyós rendszerű automatikus meghatározást dolgoztak ki. Az oldatok fényelnyelését 520 nm hullámhosszon mérték.

Tonkovic és Hadzija [32] tejsavat, réz-szulfátot és p-hidroxi-difenilt használtak a metionin mennyiségi meghatározására. A vizsgálat alapját szolgáló színreakciót először Barker és Summerson [1] írták le. A módszer lényege az, hogy a metionin a tejsav és a p-hidroxi-difenil (PHD) reakciójának inhibitora, ezért metionin jelenlétében a reakció a metionin koncentrációjával arányosan kisebb színreakciót eredményez. A színintenzitás csökkenés az 5-45 µg metionin-tartományban lineáris, így felhasználható a metionin

koncentrációjának mérésére. A reakciót a fehérjealkotó aminosavak nem zavarják, ezért a módszer a tiszta metioninra vagy fehérje hidrolizátumokra egyaránt alkalmazható. A tejsav és a PHD reakciója során kapott színes termék, a nagyobb tejsav koncentrációtól eltekintve, követi a Lambert-Beer törvényt, a színintenzitás csökkenése arányos a metionin koncentrációjával, ezért a módszer jól használható a metionin koncentrációjának mérésére.

A vizsgálat során 5-45 µg metionin-tartalmú mintához 20 µg tejsavat adtak, majd kémcsőben egy ml vizet, 0,05 ml réz-szulfát oldatot és 6 ml koncentrált kénsavat adtak hozzá, a felforrósodott elegyet pedig folyóvízben lehűtötték. Öt percig forró vízben tartották, majd 20 °C-ra lehűtötték, és 0,1 ml PHD oldatot adtak hozzá. Kapilláris segítségével 30 °C-on 30 percig kevertették levegő áramban. Amennyiben a PHD reagens teljes mértékben nem oldódott fel, az oldatot 90 másodpercre ismét forró vízbe helyezték, majd a lehűlt minta abszorbancióját, a reagens vakkal szemben 560 nm-en mérték.

A periódusos rendszer platinacsoportjának fémei (platina, palládium) színes komplex jodidokat képeznek, amelyek szerves szulfidokkal vagy merkaptó-vegyületekkel elszíntelenednek a ligandumként viselkedő kéntartalmú vegyületeknek a platinával vagy palládiummal képzett komplexei révén. A színintenzitás csökkenése mellett hasonlóan reagál a metionin és a cisztein is a palládium-fenazino-triazio-komplexszel. Az elszíntelenedési reakció alkalmas a metionin-tartalom meghatározására [19]. A cisztein hatása a platinakompleyre lényegesen kisebb, mint a metioniné. A ciszteint tiazolidin-4-karbonsav keletkezése közben feleslegben adott formaldehiddel lehet lekötöni. A meghatározás során a színes reagens oldat a metionin-tartalommal arányosan elszíntelenedik el. A színintenzitás csökkenése 5-15 mm-es küvettában, 490 nm-en mérhető.

3.2. A cisztin-cisztein fotometriás meghatározása

A cisztin és a cisztein fotometriás meghatározásánál a cisztint a legtöbb esetben redukcióval ciszteinné kell átalakítani. A reakcióhoz szulfidot, nátrium-bórhidridet vagy merkaptó-etanolt használtak. A cisztin redukciójára a ditioeritritet (eritro-2,3-dihidroxi-1,4-ditiolbután) és a ditiotreit (treo-2,3-dihidroxi-1,4-ditiolbután) Cleland [10] vezette be. A ditioeritrittel (DTE) és a ditiotreittel (DTT) végzett redukció előnye, hogy ciklikus diszulfid képződése miatt a Cleland-reagens oxidált formája kerül előtérbe, és az a reakció egyensúlyát a cisztein oldalára tolja el. A DTE és DTT alacsony redoxpotenciálja miatt csak kis reagensfelesleg szükséges, hogy a cisztin teljes redukciója végbemenjen.

Gaitonde a cisztein mennyiségi meghatározását ecetsavas-sósavas közegben a ninhidrin és a cisztein, 100 °C-on, 6-10 perc alatt képződött színes reakciótermékének 570 nm-en végzett fotometrlálásá-

val végezte [15]. Az egyéb, természetben előforduló aminosavak mellett a cisztein koncentrációját 411 nm-en a noradrenalin-bitartarátból kálium-ferri-cianidval való oxidálással előállított noradrenokrom vegyület színtelenedésének mérésével is meg lehet határozni [30]. Színreakciót hoztak létre a cisztein, valamint a brucin és a kálium-perszulfát 50%-os kénsavas oldata felhasználásával is, amelyet követően a cisztein mennyiségét 660 nm-en, fotometrlással mérték [27]. A cisztein meghatározására a naftokinon-4-nátrium-szulfonát és a cisztein között létrejött reakcióban keletkezett színes termék abszorbanciójának mérése is használható, amely 520 nm-en mutat fényelnyelési maximumot [22]. Ciszteinnel reagáltatva színreakció képzésére a nátrium-nitrit, a szulfanil-amid és az n-1-naftil-etilén-diamin is alkalmas, amelyek hatására a ciszteinből nitro-izo-cisztein keletkezik, amelynek fényelnyelését 650 nm-en mérték [24].

A cisztein színes vegyületet képez még a tiofluoreszceinnel, az 5,5'-ditio-bis-(2-nitro-benzoészav)-val, a 2-vinil-kinolinnal és a 4,4'-bis-dimetilamino-difenilkarbinollal. Irodalmi forrásokban említést tesznek a cisztein nitrilo-triecsészav(III)-kloriddal és az 1,10-fenantrolinnal lejátszódó reakcióiról is, amelyek ugyancsak alkalmasak a cisztein meghatározására [4].

Holz [19] Ellman módszerét tartotta legalkalmasabbnak a cisztein automatizált meghatározására, amelynek során a cisztint Cleland-módszere szerint DTE-vel vagy DTT-vel ciszteinné redukálta, a feleslegben lévő redukálószer pedig nátrium-arszennel kötötte meg. Ellman [14] az oldatok fényelnyelését 412 nm hullámhosszon mérte. A cisztein mennyiségét az Ellman-reagenssel (5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzoészav, DTNB) történő származékképzés után a sárga színű trinitrobenzoészav abszorbanciójának segítségével határozta meg. A DTE-vel valamint a DTT-vel való redukció és az Ellman-reagenssel való meghatározás is tiol-diszulfid cserén alapszik, ezért a cisztein-, illetve cisztin meghatározási módszer specifikus, más aminosavak azt nem zavarják.

A vizsgálatok szerint a DTE és a DTT redukáló képessége azonosnak tekinthető, mivel a cisztein- és a cisztin-színintenzitások mindegyik vegyülettel azonosak voltak. A cisztin redukciójára 10-12 perc reakcióidőt javasolnak, bár néhányan a 30 perces időt tartják megfelelőnek. A ciszteintartalmú minták ciszteinmeghatározási eredményei redukálószer hozzáadása nélkül lényegesen alacsonyabbnak bizonyultak, mert a cisztein érzékeny az oxigénre, és a tárolás során részben cisztinné oxidálódik. Redukálószer hozzáadása nélkül az oxidálódott cisztein nem vesz részt a reakcióban, így a meghatározás a valóságosnál alacsonyabb cisztein értékhez vezet. A fotometriás módszer alkalmas élelmiszerek és takarmányok cisztintartalmának nagy sorozatban való meghatározására.

Ohmori és mtsai. [28] egy egyszerű és specifikus vizsgálatot dolgoztak ki a cisztein meghatározására. A ciszteint metanolban p-dimetil-amino-fahéjaldehiddel reagáltatták, 60 °C-on, 2 órán át, kénsav jelenlétében. Az abszorbanciát 587 nm-en mérték, a színes származék 60 °C-on legalább 5 órán keresztül stabil volt. Az eljárás specifikus volt a ciszteinre, mert más aminosavakkal nem jelentkezett színreakció.

3.3. A lizin fotometriás meghatározása

A savas fehérje hidrolízist követően Carpenter és mtsai. [5], illetve Lea és munkatársai [23] az 1-fluoro-2,4-dinitrobenzolt használták a lizin mennyiségének meghatározására. Carpenter és Ellinger [6, 7] ezt az eljárást fejlesztette tovább, amely hasznosnak bizonyult számos állati eredetű minta esetében, a meghatározást azonban jelentősen befolyásolta az α -dinitro-fenil-arginin zavaró hatása. Az interferenciát metoxi-karbonil-klorid alkalmazásával [3] sikerült kiküszöbölni, de ez a kezelés egy színes hisztidin-származék váratlan kialakulásához vezetett [8]. A módszert Carpenter [9] tovább fejlesztette, és a továbbiakban kísérleteit 1-fluoro-2,4-dinitrobenzollal végezte el.

A módszer lényege az, hogy első lépésben a lizin szabad ϵ -amino csoportja reagál az 1-fluoro-2,4-dinitrobenzollal (FDNB), amely egy sárga színű dinitro-fenil (DNP) származékot eredményez. Ezt követően a fehérjét 6 M sósavval aminosavakká hidrolizálják, majd a reagens feleslegét és a fotometriás meghatározást zavaró anyagokat éteres extrakcióval eltávolítják, és végül mérik a vizes maradék abszorbanciáját, amelyből a szabad ϵ -amino csoport mennyiségére, abból pedig a lizin koncentrációjára lehet következtetni. Az eljárás során a 30-50 mg nitrogént tartalmazó mintához 8%-os nátrium-hidrogén-karbonát oldatot, majd az FDNB alkoholos oldatát adták, két órán át kevertették, majd miután a reakció lejártszódott, a fehérjét azonnal 8 M sósavval 16 órán át, refluxáltatva hidrolizálták. A hidrolizátumot megfelelő hígítást követően éterral többször extrahálták, a vizes fázishoz metoxi-karbonil-klorid oldatot adtak, éterral ismét extrahálták, és a vizes fázis abszorbanciáját 435 nm-en, vakkal szemben, mérték. A módszer hátránya, hogy a hisztidin és az arginin zavarták a meghatározást. A hisztidin interferenciát okozó hatása kisebb volt, mivel annak dinitro-fenil (DNP) származéka 435 nm-en nem mutatott maximális abszorbanciát. A módszert hosszú időn át, az automatikus aminosav analízátorok elterjedéséig, rutinszerűen alkalmazták a hasznosítható lizintartalom meghatározására.

3.4. Az arginin meghatározására fotometriásan

Az aminosavak közül egyedül az arginin rendelkezik guanidin csoporttal, amely olyan színreakciót ad, mely az argininre specifikussá teszi a meghatározást. A Sakaguchi [31] módszere szerint lúgos körülmények között az arginin az α -naftollal és a nátrium-hipobromittal vagy nátrium-hipoklorittal reagál, és az

oxidáció eredményeként egy olyan vörös-barna színű vegyület keletkezik, amely spektrofotometriásan mérhető. A fehérje hidrolizátum számos olyan anyagot tartalmazhat, amelyek megakadályozzák a szín kifejlődését, ezek közül a leggyakoribb az ammónia. Izumi [20] 520 nm hullámhosszon, míg ugyanezen reakciót felhasználva Gilboe és William [16] 490 és 510 nm közötti hullámhossz tartományban határozták meg a minták arginin-tartalmát.

4. Általános áttekintés

A fehérjék 6 M sósavval, 110 \pm 1 °C-on, 24 órán át végzett hidrolízisét követően valósítható meg, a – triptofán kivételével – az aminosavak fotometriás meghatározása. A két kéntartalmú aminosav szelektív meghatározását az teszi lehetővé, hogy mind a metionin metil-merkaptó csoportja, mind a cisztin redukciójával képződött cisztein szulfhidril csoportja olyan speciális származékképzési reakciókba vihető, amelyek csak ezekre az aminosavakra jellemzők. Ugyanez elmondható a lizin ϵ -amino csoportjáról és az arginin guanidin-csoportjáról is, amelyekkel létrehozott speciális színreakciók lehetővé teszik az egyedi meghatározást.

A metionin fotometriás meghatározása során alkalmazható a nitroprusszid-nátriumos színreakció [25], amelyet azonban a hisztidin és a triptofán jelenléte zavar. A zavaró hatás kiküszöbölése után a reakció specifikus a metioninra, ugyanis a többi aminosav ilyen körülmények között nem képez színes vegyületet, és a metionin oxidált származékai, valamint a homocisztein, a cisztein és a cisztin sem adnak színreakciót.

Pieniazek és mtsai. [29] a metionint nátrium-nitráttal és trinátrium-pentaciano-aminoferráttal ecetsavas közegben reagáltatták, Tonkovic és Hadzija [32] pedig tejsavat, réz-szulfátot és p-hidroxi-difenilt használtak a metionin-tartalom meghatározására. A módszer lényege, hogy a metionin a tejsav és a p-hidroxi-difenil (PHD) reakciójának inhibitora, ezért metionin jelenlétében a reakció a metionin koncentrációjával arányosan kisebb színreakciót eredményez.

A platina és a palládium színes komplex jodidokat képeznek, amelyek szerves szulfidokkal vagy merkaptó-vegyületekkel elszíntelenednek a kéntartalmú vegyületeknek, mint ligandumnak, a platinával vagy palládiummal képzett komplexei révén. A színintenzitás csökkenése mellett hasonlóan reagál a metionin és a cisztein is a palládium-fenazino-triazo-komplexszel, mely elszíntelenedési reakció alkalmas a metionin tartalom meghatározására [19]. A cisztein hatása platinakomplekre lényegesen kisebb, mint a metioniné, és a zavaró hatást is meg lehet szüntetni feleslegben adott formaldehiddel.

A cisztin és a cisztein fotometriás meghatározásának első lépése, hogy a cisztint szulfitos, nátrium-bórhidrides vagy merkaptó-etanolos redukcióval

ciszteinné alakítják. A ditioeritritet (eritro-2,3-dihidrox-1,4-ditiolbután) és a ditiotreitet (treo-2,3-dihidrox-1,4-ditiolbután) Cleland [10] vezette be a cisztin redukciójára, melynek előnye, hogy egy ciklikus diszulfid képződése miatt a Cleland-reagens oxidált formája kerül előtérbe, ami a reakció egyensúlyát a cisztein oldalára tolja el.

A cisztein fotometriás meghatározása során a ciszteint a ninhidrin és a cisztein között ecetsavas-sósavas közegben létrejövő reakció révén határozták meg. A 100 °C-on, 6-10 perc alatt létrejött színes vegyületet 570 nm-en végzett fotometrálták [15]. A cisztein mennyiségének mérésére alkalmazták a noradrenalin-bitartarátból kálium-ferri-cianiddal való oxidálással előállított noradrenokrom szintelenedését is [30]. Ugyancsak színreakciót hoztak létre a cisztein, valamint a brucin és a kálium-perszulfát 50%-os kénsavas oldata segítségével [27]. Alkalmazták még erre a célra a naftokinon-4-nátrium-szulfonátot [22] és a nátrium-nitritet, a szulfanil-amidot és az n-1-naftil-etilén-diamint is [24]. A cisztein színes vegyületet képez még a tiofluoreszceinnel, az 5,5'-ditio-bis-(2-nitro-benzoészav)-val, a 2-vinil-kinolinnal és a 4,4'-bis-dimetilamino-difenilkarbinollal, valamint a nitrilo-triacetsav-vas(III)-kloriddal és az 1,10-fenantrolinnal is [4].

Holz [19] Ellman [14] módszerét módosítva a cisztint Cleland-módszere szerint DTE-vel vagy DTT-vel ciszteinné redukálta, majd a ciszteint az Ellman-reagenssel (5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzoészav, DTNB) történő származékképzés után a sárga színű trinitrobenzoészav abszorbanciájának segítségével mérte. A meghatározás a tiol-diszulfid cserén alapszik, ezért a cisztein-, illetve cisztin meghatározási módszer specifikus, más aminosavak azt nem zavarják.

Ohmori és mtsai. [28] a ciszteint p-dimetil-amino-fahéjaldehiddel reagáltatták, az abszorbanciát pedig 587 nm-en mérték. A reakció specifikus volt a ciszteinre, mert más aminosavakkal nem jelentkezett színes származék.

A savas fehérje hidrolízist követően Carpenter és munkatársai [5], illetve Lea és munkatársai [23] az 1-fluoro-2,4-dinitrobenzolt használták a lizin mennyiségének meghatározására. A módszer lényege az, hogy első lépésben a lizin szabad ϵ -amino csoportja reagál az 1-fluoro-2,4-dinitro benzollal (FDNB), mely egy sárga színű dinitro-fenil (DNP) származékot eredményez. Ezt követően a fehérjét 6 M sósavval aminosavakká hidrolizálják, majd éteres extrakcióval eltávolítják a reagens feleslegét, és a fotometriás meghatározást zavaró anyagokat, és végül 435 nm-en mérik a vizes maradék abszorbanciáját, melyből a szabad ϵ -amino csoport mennyiségére, abból pedig a lizin koncentrációjára lehet következtetni.

Az arginin Sakaguchi [31] módszere szerint lúgos körülmények között reagál az α -naftollal és a nátrium-hipobromittal vagy a nátrium-hipoklorittal, és az oxidáció eredményeként egy olyan vörös-barna színű vegyület keletkezik, mely spektrofotometriásan 520 nm hullámhosszon [20] vagy 490 és 510 nm közötti hullámhossz tartományban [16] mérhető.

5. Köszönetnyilvánítás

A publikáció elkészítését az EFOP-3.6.3-VE-KOP-16-2017-00008 számú projekt támogatta. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg.

Determination of amino acid composition of foods by photometric methods, Part 2 - Determination of methionine, cystine, lysine and arginine

Keywords: amino acid determination, protein hydrolysis, amino acid colour reactions, photometry, methionine, cystine, cysteine, lysine, arginine

1. SUMMARY

In the second part of our review paper on the photometric determination of the amino acid content of foods, methods of determination of two essential amino acids (methionine, lysine) and two semi-essential amino acids (cystine, arginine) reported in the literature are described. Selective determination of the two sulfur-containing amino acids is made possible by the fact that both the methylmercapto group of methionine and the sulfhydryl group of cysteine formed by the reduction of cystine can be subjected to specific derivatization reactions which are characteristic of only these amino acids. The same can be said for the ϵ -amino group of lysine and the guanidine group of arginine, which allow the specific determination of the amino acids in question with the help of special colour reactions.

The reaction most suitable for the determination of methionine is one in which the discolouration of platinum and palladium complexes is catalyzed by methionine, and from which the amount of methionine can be deduced. Under appropriate conditions, organic sulfides and cystine do not interfere with the reaction. The first step in the determination of cystine and cysteine is the reduction of cystine to cysteine, followed by a reaction between cysteine and a derivatizing agent, most commonly 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid). Quantification can be performed by the photometric measurement of the coloured compound formed. In the case of lysine, the free ϵ -amino group of lysine is reacted with the derivatizing agent, most commonly 1-fluoro-2,4-dinitrobenzene, and then colour intensity is measured. In the case of arginine, most often the reaction between the guanidine group, α -naphthol and sodium hypobromide serves as the basis for the determination.

2. Introduction

Of the protein-building amino acids, methionine and lysine are essential for humans, while cysteine and arginine are semi-essential amino acids, because

cysteine can be produced by the body from an essential amino acid, methionine, while arginine can be produced by the body as well, but under certain physiological conditions it can become essential to the body. Lysine and methionine are two limiting amino

¹ University of Debrecen, Faculty of Agricultural and Food Sciences and Environmental Management, Institute of Food Technology

² SAPIENTIA Hungarian University of Transylvania, Faculty of Miercurea Ciuc, Department of Food Science

³ University of Debrecen Doctoral School of Animal Science

⁴ University of Debrecen Doctoral School of Nutrition and Food Science

acids of our food raw materials, so when determining the nutritional value of foods, when calculating the biological value of a protein, it is essential to know the amount of these two amino acids.

Cystine and cysteine occur only in low concentrations in food proteins, so their amounts are difficult to measure in the presence of all the other amino acids. In addition, both amino acids are sensitive to oxidation, so they are usually determined by instrumental analytical techniques after oxidation as cysteic acid. The sulfhydryl group of cysteine is more reactive than the disulfide bridge in cystine, so reduction is an essential step in the determination, during which cystine is converted to cysteine, so that cystine can be determined as cysteine. Compared to human needs, arginine is usually present in food proteins in optimal amounts, but it may become essential in younger age groups or in individuals with certain diseases, therefore it is important to be able to ascertain its amount [2, 9, 12, 18, 33].

In most laboratories, the amino acid composition of foods is determined by ion exchange column chromatography (IEC), by an automated amino acid analyzer based on the same principle [11, 13, 17, 21], or by high performance liquid chromatography (HPLC) [13, 18]. However, obtaining and operating the necessary instruments is very expensive, which smaller laboratories cannot afford. In some cases, it is not even necessary to determine all amino acids, so it may be unnecessary to separate and quantify all amino acids by costly large instrumental techniques, it may be sufficient to measure the concentrations of one or two essential or possibly limiting amino acids. The objective of our research was therefore to develop photometric methods that can easily determine the methionine, cystine, lysine and arginine contents of proteins without the application of large instruments. By using such methods, the measurement of essential or semi-essential amino acids may be possible in laboratories that do not possess large instruments. In our paper, a compilation of methods reported in the literature for the photometric determination of methionine, cystine, lysine and arginine is presented.

2.1. Hydrolysis of proteins

Before the determination of the amino acid composition of proteins, they must be hydrolyzed to free amino acids. The internationally accepted method of protein hydrolysis, during which in the case of foods 20 to 200 mg of the substance is weighed in depending on the protein content of the sample, and the hydrolysis is carried out with 6 M hydrochloric acid at 110 ± 1 °C for 24 hours, was developed by Moore and Stein [26]. Prior to the hydrolysis, complete removal of oxygen must be ensured, which can be achieved by evacuating the space above the frozen liquid, purging with nitrogen gas, or a combination of the two. The optimum temperature for hydrolysis is 110 ± 1 °C, fluctuations of which should be

avoided, since during hydrolysis performed at lower temperatures (105 °C) the breakdown of peptide bonds is no longer quantitative, while at higher temperatures the degradation of more sensitive amino acids can be expected. Following hydrolysis, the hydrochloric acid is removed by rotary vacuum distillation or lyophilization.

3. Determination of the amino acid composition of proteins by photometric methods

3.1. Photometric determination of methionine

The nitroprusside sodium method, which is the simplest to apply, has been described for the photometric determination of methionine by McCarthy and Sullivan [25], however, its sensitivity is poor and the presence of histidine or tryptophan interfere with the colour reaction. The interfering effect can be eliminated by the addition of excess glycine and the method can be made automatic. During the procedure, 1 ml of 14.3 M sodium hydroxide solution, 1 ml of 1% glycine solution and 0.3 ml of 10% nitroprusside sodium solution are added to 5 ml of the test solution, while the mixture was mixed each time. It was placed in a water bath at 35-40 °C for 5 to 10 minutes, then it was cooled for two minutes with a mixture of water and ice at 0 °C, 5 ml of a mixture of hydrochloric acid and phosphoric acid (8 parts of concentrated hydrochloric acid and 1 part of 85% phosphoric acid by volume) was added with constant stirring. After vigorous stirring, the mixture was cooled in water and kept at room temperature for 5 to 10 minutes. A methionine calibration series was prepared in a similar manner. It was achieved by the use of concentrated sodium hydroxide solution that glycine and histidine did not give a colour reaction, while the combined use of hydrochloric acid and phosphoric acid resulted in a solution with a clearer colour than derivatization without the addition of phosphoric acid. The absorbance of the samples was measured in the wavelength range of 520 to 580 nm.

The reaction is specific for methionine, as the other amino acids do not form coloured compounds under these conditions. Also, oxidized derivatives of methionine, homocysteine, cysteine and cystine do not react, nor does tryptophan, if the acid is added cold to the reaction mixture.

Pieniazek et al. [29] reacted methionine with sodium nitrite and trisodium pentacyanoaminoferrate in an acetic acid medium. Cystine and cysteine do not interfere with the reaction, while the interference of histidine can be eliminated with a pH=1.5 glycine buffer. The sensitivity of this method is not very high either, however, an automated determination with a flow-through system was developed based on the colour reaction. The absorbance of the solutions was measured at a wavelength of 520 nm.

Tonkovic and Hadzija [32] used lactic acid, copper sulfate and p-hydroxydiphenyl for the quantitative determination of methionine. The colour reaction which serves as the basis for the analysis was first described by Barker and Summerson [1]. The essence of the method is that methionine is an inhibitor of the reaction between lactic acid and p-hydroxydiphenyl (PHD), therefore, in the presence of methionine, the reaction results in a colour reaction with diminished intensity proportional to the concentration of methionine. The decrease in colour intensity is linear in the 5 to 45 µg methionine range, so it can be used to measure the concentration of methionine. Protein-forming amino acids do not interfere with the reaction, so the method can be applied to either pure methionine or protein hydrolyzates. The coloured product obtained during the reaction of lactic acid and PHD, apart from higher lactic acid concentrations, follows the Lambert-Beer law, the decrease in colour intensity is proportional to the methionine concentration, therefore the method is well suited to the measurement of methionine concentration.

During the analysis, 20 µg of lactic acid was added to a sample containing 5 to 45 µg methionine, then 1 ml of water, 0.05 ml of copper sulfate solution and 6 ml of concentrated sulfuric acid was added in a test tube, and the hot mixture was cooled under running water. It was kept in hot water for five minutes, cooled to 20 °C and 0.1 ml of PHD solution was added. Using a capillary, it was stirred at 30 °C for 30 minutes in a stream of air. If the PHD reagent was not completely dissolved, the solution was again placed in hot water for 90 seconds, and then the absorbance of the cooled sample was measured at 560 nm against the reagent blank.

The metals of the platinum group of the periodic table (platinum, palladium) form coloured complex iodides, which are discoloured by organic sulfides or mercapto compounds, because the sulfur-containing compounds act as ligands and form complexes with platinum and palladium. Methionine and cysteine react similarly with the palladium phenazinotriazo complex with a decrease in colour intensity. The decolourization reaction is suitable for the determination of methionine content [19]. The effect of cysteine on the platinum complex is significantly smaller than that of methionine. Cysteine can be captured in the form of thiazolidine-4-carboxylic acid by the addition of excess formaldehyde. During the determination, the coloured reagent solution becomes colourless in proportion to the methionine content. The decrease in colour intensity can be measured at 490 nm in a cuvette of 5 to 15 mm.

3.2. Photometric determination of cystine-cysteine

In most cases, in the photometric determination of cystine and cysteine, cystine must be converted to cysteine by reduction. Sulfite, sodium borohydride

or mercaptoethanol are used for the reaction. For the reduction of cystine, dithioerythritol (erythro-2,3-dihydroxy-1,4-butanedithiol) and dithiothreitol (threo-2,3-dihydroxy-1,4-butanedithiol) were introduced by Cleland [10]. The advantage of reduction with dithioerythritol (DTE) and dithiothreitol (DTT) is that due to the formation of a cyclic disulfide, the oxidized form of the Cleland reagent predominates, shifting the equilibrium of the reaction to the cysteine side. Due to the low redox potential of DTE and DTT, only a small excess of reagent is required for the complete reduction of cystine to occur.

Quantitative determination of cysteine was performed by Gaitonde in an acetic acid-hydrochloric acid medium by photometry at 570 nm of the coloured reaction product of ninhydrin and cysteine formed at 100 °C over 6 to 10 minutes [15]. In the presence of other naturally occurring amino acids, the concentration of cysteine can also be determined at 411 nm by measuring the decolourization of the noradenochrome compound prepared by the oxidation of noradrenaline bitartrate with potassium ferricyanide [30]. A colour reaction was also performed using cysteine, brucine and a 50% sulfuric acid solution of potassium persulfate, after which the amount of cysteine was measured at 660 nm by photometry [27]. Measurement of the absorbance of the coloured product formed in the reaction between sodium naphthoquinone-4-sulfonate and cysteine, showing a light absorption maximum at 520 nm, can also be used for the determination of cysteine [22]. When reacting with cysteine, sodium nitrite, sulfanylamide and N-(1-naphthyl)ethylenediamine are also suitable for a colour reaction, resulting in the formation of nitroisocysteine, the absorbance of which can be measured at 650 nm [24].

Cysteine also forms coloured compounds with thiofluorescein, 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid), 2-vinylquinoline and 4,4'-bisdimethylaminodiphenylcarbinol. Reactions of cysteine with nitrilotriacetic acid ferric chloride and 1,10-phenanthroline have also been reported in the literature, and these are also suitable for the determination of cysteine [4].

Holz [19] considered the method of Ellman, during which cystine was reduced to cysteine by DTE or DTT according to Cleland's method and the excess reducing agent was reacted with sodium arsenite, to be the most suitable for the automated determination of cysteine. The absorbance of the solutions was measured by Ellman [14] at a wavelength of 412 nm. The amount of cysteine was determined by the absorbance of the yellow trinitrobenzoic acid after derivatization with Ellman's reagent (5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid), DTNB). Reduction with DTE or DTT, as well as determination using Ellman's reagent are based on a thiol-disulfide exchange, therefore, the method for the determination of cysteine or cystine is specific, other amino acids do not interfere with it.

Studies have shown that the reducing abilities of DTE and DTT can be considered the same, as cysteine and cystine colour intensities were the same for both compounds. For the reduction of cystine, a reaction time of 10 to 12 minutes is recommended, although some consider a time of 30 minutes to be appropriate. Cysteine determination results of cysteine-containing samples without the addition of a reducing agent were found to be significantly lower, because cysteine is sensitive to oxygen and is partially oxidized to cystine during storage. Without the addition of a reducing agent, the oxidized cysteine does not participate in the reaction, so the determination leads to a cysteine value lower than the actual one. The photometric method is suitable for the determination of the cystine content of large series of food and feed samples.

A simple and specific analysis for the determination of cysteine was developed by Ohmori et al. [28]. Cysteine was reacted with p-dimethylaminocinnamic aldehyde in methanol at 60 °C for 2 hours in the presence of sulfuric acid. Absorbance was measured at 587 nm and the coloured derivative was stable at 60 °C for at least 5 hours. The procedure was specific for cysteine, since the colour reaction did not take place with other amino acids.

3.3. Photometric determination of lysine

To determine the quantity of lysine, 1-fluoro-2,4,-dinitrobenzene was used by Carpenter et al. [5], as well as Lea et al. [23], following acid protein hydrolysis. This procedure was further developed by Carpenter and Ellinger [6, 7], which was proved to be useful for many samples of animal origin, but the determination was significantly influenced by the interfering effect of α -dinitrophenylarginine. Interference was eliminated using methoxycarbonyl chloride [3], but this treatment led to the unexpected formation of a coloured histidine derivative [8]. The method was further developed by Carpenter [9], and further experiments were performed with 1-fluoro-2,4-dinitrobenzene.

The essence of the method is that the free ϵ -amino group of lysine reacts with 1-fluoro-2,4-dinitrobenzene (FDNB) in the first step, resulting in a yellow coloured dinitrophenyl (DNP) derivative. Following this, the protein is hydrolyzed to amino acids with 6 M hydrochloric acid, excess reagent and substances interfering with the photometric determination are removed by extraction with ether, and finally the absorbance of the aqueous residue is measured, from which the amount of free ϵ -amino groups and the thus the concentration of lysine can be deduced. During the procedure, an 8% sodium hydrogen carbonate solution and then an alcoholic solution of FDNB were added to a sample containing 30 to 50 mg of nitrogen, it was stirred for two hours, and after the reaction took place, the protein was immediately hydrolyzed with 8 M hydrochloric acid

for 16 hours at reflux. After appropriate dilution, the hydrolyzate was extracted several times with ether, methoxycarbonyl chloride solution was added to the aqueous phase, it was again extracted with ether and the absorbance of the aqueous phase was measured at 435 nm against a blank. The method was not perfect because both histidine and arginine interfered with the determination. The interfering effect of histidine was smaller because its dinitrophenyl (DNP) derivative did not show a maximum absorbance at 435 nm. This method had been used routinely to determine the recoverable lysine content for a long time, until automated amino acid analyzers have gained widespread use.

3.4. Photometric determination of arginine

Of the amino acids, only arginine has a guanidine group that is subject to colour reactions which make the determination of arginine specific. According to the method of Sakaguchi [31], under alkaline conditions, arginine reacts with α -naphthol and sodium hypobromite or sodium hypochlorite to give a spectrophotometrically measurable reddish-brown compound as a result of the oxidation. The protein hydrolyzate can contain a number of substances that prevent the development of colour, the most common of which is ammonia. The arginine content of the samples was determined by Izumi [20] at a wavelength of 520 nm, while it was performed by Gilboe and William [16] in the 490-510 nm wavelength range using the same reaction.

4. General review

The photometric determination of amino acids, with the exception of tryptophan, may begin after the hydrolysis of proteins with 6 M hydrochloric acid at 110 ± 1 °C for 24 hours. Selective determination of the two sulfur-containing amino acids is made possible by the fact that both the methylmercapto group of methionine and the sulfhydryl group of cysteine formed by the reduction of cystine can be subjected to special derivatization reactions characteristic of only these amino acids. The same can be said for the ϵ -amino group of lysine and the guanidine group of arginine, the special colour reactions of which allow their specific determination.

The nitroprusside sodium colour reaction can be used for the photometric determination of methionine [25], however, the presence of histidine and tryptophan interfere with it. Once the interference has been eliminated, the reaction is specific for methionine, since the other amino acids do not form coloured compounds under these conditions, and the oxidized derivatives of methionine, homocysteine, cysteine and cystine do not undergo colour reactions either.

Methionine was reacted with sodium nitrite and trisodium pentacyanoaminoferrate in an acetic acid medium by Pieniazek et al. [29], while Tonkovic and

Hadzija [32] used lactic acid, copper sulfate and p-hydroxydiphenyl to determine methionine content. The essence of the method is that methionine is an inhibitor of the reaction between lactic acid and p-hydroxydiphenyl (PHD), therefore, in the presence of methionine, the reaction results in a colour reaction with diminished intensity proportional to the concentration of methionine.

Platinum and palladium form coloured complex iodides that are discoloured by organic sulfides or mercapto compounds through the formation of complexes of sulfur-containing compounds as ligands with platinum or palladium. Methionine and cysteine react similarly with the palladium phenazinotriazo complex with a decrease in colour intensity, a decolourization reaction suitable for the determination of methionine content [19]. The effect of cysteine on the platinum complex is significantly less than that of methionine, and the interfering effect can be eliminated by the addition of excess formaldehyde.

The first step in the photometric determination of cystine and cysteine is the conversion of cystine to cysteine by reduction with sulfite, sodium borohydride or mercaptoethanol. Dithioerythritol (erythro-2,3-dihydroxy-1,4-butanedithiol) and dithiothreitol (threo-2,3-dihydroxy-1,4-butanedithiol) were introduced by Cleland [10] for the reduction of cystine, the advantage of which is that due to the formation of a cyclic disulfide, the oxidized form of the Cleland reagent predominates, shifting the equilibrium of the reaction to the cysteine side.

During the photometric determination of cysteine, the reaction between ninhydrin and cysteine in an acetic acid-hydrochloric acid medium was used. The coloured compound formed at 100 °C over 6 to 10 minutes was determined photometrically at 570 nm [15]. The decolourization of the noradenochrome compound prepared by the oxidation of noradrenaline bitartrate with potassium ferricyanide was also used for the quantification of cysteine [30]. Another colour reaction was performed using cysteine, brucine and a 50% sulfuric acid solution of potassium persulfate [27]. Sodium naphthoquinone-4-sulfonate [22], sodium nitrite, sulfanylamide and N-(1-naphthyl)ethylenediamine [24] have also been used for this purpose. Cysteine also forms coloured compounds with thiofluorescein, 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid), 2-vinylquinoline and 4,4'-bisdimethylaminodiphenylcarbinol, as well as nitrilotriacetic acid ferric chloride and 1,10-phenanthroline [4].

By modifying the method of Ellman [14], cystine was reduced to cysteine by Holz [19] using DTE or DTT according to the method of Cleland, and then cysteine was measured with the help of the absorbance of the yellow coloured trinitrobenzoic acid, following derivatization with Ellman's reagent (5,5'-dithiobis(2-

nitrobenzoic acid), DTNB). The determination is based on the thiol-disulfide exchange, therefore the method is specific for the determination of cysteine and cystine, other amino acids do not interfere with it.

Cysteine was reacted with p-dimethylaminocinnamic aldehyde by Ohmori et al. [28], and the absorbance was measured at 587 nm. The reaction was specific for cysteine because no coloured derivative was formed with other amino acids.

Following acid protein hydrolysis, 1-fluoro-2,4-dinitrobenzene was used by Carpenter et al. [5], as well as Lea et al. [23] to determine the amount of lysine. The essence of the method is that in the first step the free ϵ -amino group of lysine reacts with 1-fluoro-2,4-dinitrobenzene (FDNB), resulting in a yellow coloured dinitrophenyl(DNP) derivative. Following this, the protein is hydrolyzed to amino acids with 6 M hydrochloric acid, excess reagent and substances interfering with the photometric determination are removed by extraction with ether, and finally the absorbance of the aqueous residue is measured at 435 nm, from which the amount of free ϵ -amino groups, and from that the concentration of lysine can be deduced.

According to the method of Sakaguchi [31], arginine reacts with α -naphthol and sodium hypobromite or sodium hypochlorite under alkaline conditions and the oxidation results in a reddish-brown compound which can be measured spectrophotometrically at a wavelength of 520 nm [20] or in the wavelength range between 490 and 510 nm [16].

5. Acknowledgment

This publication was supported by project no. EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00008. The project was supported by the European Union and co-financed by the European Social Fund.

6. References

- [1] Barker S.B., Summerson W.H. (1941): The colourimetric determination of lactic acid in biological material. *Journal of Biological Chemistry*. **138** 535-554.
- [2] Bokori J., Gundel J., Herold I., Kakuk T., Kovács G., Mézes M., Schmidt J., Szigeti G., Vincze L. (2003): A takarmányozás alapjai. Mezőgazda Kiadó, Budapest. 3-11.
- [3] Bruno D., Carpenter K.J. (1957): A modified procedure for the estimation of 'available lysine' in food proteins. *Biochemical Journal*. **67** (3) 13-24.
- [4] Bydalek T.J., Poldoski J.E. (1968): Spectrophotometric determination of cysteine. *Analytical Chemistry*. **40** (12) 1878-1881.

- [5] Carpenter K.J., Ellinger G.M., Munro M.I., Rolfe E.J. (1957): Fish products as protein supplements to cereals. *British Journal of Nutrition*. **11** (2) 162-173.
- [6] Carpenter K.J., Ellinger G.M. (1955a): The estimation of „available lysine” in protein concentrates. *Biochemical Journal*. **61** (3) 11.
- [7] Carpenter K.J., Ellinger G.M. (1955b): Protein quality and available lysine in animal products. *Poultry Science*. **34** 1451-1452.
- [8] Carpenter K.J., Jones W.L., Mason E.L. (1959): Coloured reaction product from (im-DNP) histidine and methoxycarbonyl chloride. *Biochemical Journal*. **73** (1) 11.
- [9] Carpenter K.J. (1960): The estimation of the available lysine in animal-protein foods. *Biochemical Journal*. **77** (3) 604-610.
- [10] Cleland W.W. (1964): Dithiothreitol, a new protective reagent for SH groups. *Biochemistry*. **3** (4) 480-482.
- [11] Csapó J., Csapóné Kiss Zs. (2006): Élelmiszer- és takarmányfehérjék minősítése. Mezőgazda Kiadó, Budapest, (Társzerzők: Babinszky L., Győri Z., Simonné Sarkadi L., Schmidt J.) 1-451.
- [12] Csapó J., Csapóné Kiss Zs. (2007): Biokémia állattenyésztőknek. Mezőgazda Kiadó, Budapest, 35-38. 233-235.
- [13] Csapó J., Lóki K., Csapóné Kiss Zs., Albert Cs. (2005): Az aminosavak elválasztása és meghatározása ioncserés oszlopkromatográfiával, oszlop utáni származékképzés alkalmazásával. *Acta Agraria Kaposváriensis*. **9** (2) 33-51.
- [14] Ellman G.L. (1959): Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. **82** (1) 70-77.
- [15] Gaitonde M.K. (1967): A spectrophotometric method for the direct determination of cysteine in the presence of other naturally occurring amino acids. *Biochemical Journal*. **104** (2) 627-633.
- [16] Gilboe D.D., Williams J.N. (1956): Evaluation of the Sakaguchi reaction for quantitative determination of arginine. *Experimental Biology and Medicine*. **91** (4) 535-536.
- [17] Hamilton P.B. (1963): Ion exchange chromatography of amino acids. A single column, high resolving, fully automatic procedure. *Analytical Chemistry*. **35** (13) 2055-2064.
- [18] Holme D.J., Peck H. (1998): *Analytical Biochemistry*. Third Edition. Pearson Education Limited, Edinburgh Gate Harlow, 342-405.
- [19] Holz F. (1982): Automatisierte, photometrische Direktbestimmung des Methionin- und Cyst(e)ingehaltes von Samenproteinen und ihre Anwendung als analytische Schnellmethode bei der Selektion von Ackerbohnen. *Zeitschrift für Pflanzenzüchtung*. **88** 103-117.
- [20] Izumi Y. (1965): New Sakaguchi reaction. *Analytical Biochemistry*. **10** (2) 218-226.
- [21] Jungbauer A., Hahn R. (2009): Ion-exchange chromatography. *Methods in Enzymology*. **463** 349-371.
- [22] Kurtzman C.H., Smith P., Snyder D.G. (1965): An automated method for the determination of cystine. *Analytical Biochemistry*. **12** 282-289.
- [23] Lea C.H., Parr L.J., Carpenter K.J. (1960): Chemical and nutritional changes in stored herring meal. 2. *British Journal of Nutrition*. **14** (1) 91-113.
- [24] Liddell H.F., Saville B., Campbell A.D., Chettleburgh V.J., Slack J.G., Turney T.A. (1959): Colourimetric determination of cysteine. *Analyst*. **84** (996) 188-194.
- [25] Mc Carthy T.E., Sullivan M.X. (1941): A new and highly specific colourimetric test for methionine. *The Journal of Biological Chemistry*. **141** 871-876.
- [26] Moore S., Stein W.H. (1956): Column chromatography of peptides and proteins. *Advances in Protein Chemistry*. 191-236.
- [27] Nakamura K., Binkley F. (1947): Colourimetric estimation of cysteine. *Journal of Biological Chemistry*. **178** 407-410.
- [28] Ohmori S., Ikeda M., Hattori H., Hagiwara K., Iwase C. (1983): A simple and specific colourimetric determination of cysteine with p-dimethylamino-cinnamaldehyde. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. **21** (12) 851-857.
- [29] Pieniazek D., Grabarek Z., Rakowska M. (1975): Quantitative determination of the content of available methionine and cysteine in food proteins. *Nutrition & Metabolism*. **18** (1) 16-22.
- [30] Roston S. (1963): Determination of cysteine. *Analytical Biochemistry*. **6** (6) 486-490.
- [31] Sakaguchi S. (1950): A new method for the colourimetric determination of arginine. *The Journal of Biochemistry*. **37** (2) 231-236.
- [32] Tonkovic M., Hadzija O. (1977): A simple spectrophotometric method for the microtermination of methionine. *Mikrochimica Acta*. **2** 241-244.
- [33] Wunderlich, L., Szarka A. (2014): A biokémia alapjai. Typotex Kiadó, Budapest. 41-45.



A kép illusztráció / Picture is for illustration only

SPME technika alkalmazása a tejipari termékek minőségi mutatóinak meghatározásához

Kulcsszavak: tej, tejtermékek, szilárdfázisú mikroextrakció (SPME), zsírsav, aldehid, keton, enzimes barnulás, aminosavak oxidációja, aromák, alkohol, kéntartalmú szerves vegyületek, furánok, fenolok, terpenoidok

1. ÖSSZEFOGLALÁS

A szilárdfázisú mikroextrakció (Solid Phase Micro Extraction – SPME) egy viszonylag újkeletű extrakciós technika, amely egyesíti a keverékből vett minta kinyerését, valamint a dúsítás nélküli, eredeti állapotban lévő minta vizsgálandó komponenseinek egyszerűbb deszorpcióját az analitikai berendezésben. A szerzők a szakirodalomban jelen lévő nagyszámú közlemény alapján ismertetik a (SPME) technika felhasználhatóságának lehetőségeit tejipari termékek esetében. Bemutatja a SPME mintavételi eljárás segítségével detektálható főbb vegyületcsoportokat, szakirodalmi példákon keresztül, úgy, mint zsírsavak, aldehidek és ketonok, észterek, alkoholok, kéntartalmú szerves vegyületek, furánok, fenolok és terpenoidok. A szerzők a kézirat korlátozott terjedelme miatt csak az SPME technikával végzett mintaelőkészítés lehetőségeiről számolnak be. A szilárdfázisú mikroextrakciót követő – elsősorban gáz- és folyadékkromatográfiás – műszeres analitikai vizsgálati módszereket nem ismertetik. A műszeres elemzések részletei a hivatkozott irodalmi forrásokban rendelkezésre állnak.

2. Bevezetés

Az illókomponensek vizsgálatához alkalmazható módszerek az aktív aromakomponensek mennyiségétől és természetétől, élelmiszer minták esetében pedig még bonyolultabb a fellépő mátrixhatástól függően választhatók meg. A vizsgálat sikeressége főként attól függ, hogy a gyakran elenyésző mennyiségben jelen lévő illókomponensek hogyan reagálnak a különböző élelmiszer alkotókkal pl. zsírokkal, szénhidrátokkal.

A tejtermékek aromakomponenseinek analízise összetett feladatot jelent a mintamátrix komplexitása és a leggyakrabban alkalmazott mintaelőkészítési eljárások bonyolultsága miatt, mint amilyenek például a vákuum desztilláció és a folyadék-folyadék extrakció [20, 38, 40, 59].

Az extrakciós vizsgálatokat folyamatosan korszerűsítik és új technikákat fejlesztenek ki fel annak érdekében, hogy csökkentsék az extrakció időtartamát, oldószer- és eszközigényét, és növelni tudják a mérés érzékenységét, valamint biztosítsák a széles körű felhasználhatóságot [49].

SPME mintaelőkészítéssel meghatározható kémiai vegyületcsoportok szerepet játszanak a termékek ízének, illatának kialakításában és indikátorként viselkednek, amennyiben a termékben minőségi változás – mikrobiológiai romlás, kémiai bombás, szennyeződés – következik be.

2. Tejtermékekből SPME módszerrel detektálható főbb vegyületcsoportok

2.1. Zsírsavak

A természetes zsiradékok hidrolízisével alifás monokarbonsavak keletkeznek, amelyek a szénlánc hossza, a kettős kötések száma és helye, valamint konfigurációja és a funkciós csoportok szerint csoportosíthatók [19]. A zsírsavak egy alkiláncból és egy ehhez kapcsolódó karboxilsav funkciós csoportból tevődnek össze [50]. Az SPME technikával a 4 és 12 szénatomszám közötti zsírsavakat lehet extrahálni [2, 16, 35, 42, 73].

A zsírsavak, illetőleg a trigliceridek a tej fő energiahordozó összetevői. A trigliceridek egy glicerín molekulá-

¹ Széchenyi István Egyetem, Mezőgazdaság és Élelmiszertudományi Kar, Élelmiszertudományi Tanszék

hoz három, kovalens kötéssel kapcsolódó zsírsav molekulából állnak. [44]. Megjegyezzük, hogy a zsírsavak gyakran az élelmiszerekben megtalálható észterek, ketonok és aldehidek prekursor vegyületei [47, 48, 72].

A zsírsavak a mikrobiológiai aktivitás biomarkerei. A zsírsavak a laktóz, az aminosavak és a kazein bakteriális bomlásakor és az aminosavak átalakulásakor keletkeznek [3, 69], továbbá jelentős mértékben hozzájárulnak a sajtok illékony aromáinak kialakításához [21, 28, 71]. 12 szénatomos zsírsavakat detektáltak HS-SPME módszerrel sajtokból [8] és savófehérjékből [36].

Az SPME technika a különböző élelmiszerek zsírsav profiljának meghatározására is használható. A sajtok és a joghurtok a zsírsavak relatív koncentrációjával jellemezhetők [4, 25].

Más szerzők szerint a zsírsavak mennyiségének és egymáshoz viszonyított arányának mérése alkalmas a kecskesajt és a tehéntejből készült sajt megkülönböztetésére, a kecskesajt jellegzetes ízet és illatát adó hexánsav azonosításával [46, 58]. A zsírszegény sajtokban a domináns aromát közel állandó arányban jelen lévő 4-8 szénatomszámú zsírsavak és az ecetsav adják [13], a zsírsav-spektrum vizsgálata alkalmas a sajthamisítások kimutatására is [41].

A zsírsav-analitikát a tejtermékek eltarthatósági idejének növelésére szolgáló kezelések hatékonyságának meghatározására is használják [73], azonban a mintákban jelenlévő egyéb vegyületek a vizsgálatot zavarhatják, ezért más alkotók analízisekor célszerű a mintát zsírtalanítani [43].

2.2. Aldehidek és ketonok

Az aldehidekben és ketonokban egy-egy karbonil-csoport található, amelyhez aldehidek esetében egy alkil lánc és egy hidrogén atom, ketonok esetében pedig két alkil lánc kapcsolódik [28].

Az aldehidek primer alkoholokból keletkeznek enyhe oxidációval általános szerkezetük R-CHO. A legreaktívabb vegyületek közé tartoznak. Az aldehidek további oxidációja során karbonsavak keletkeznek. Az aldehidek jellemző reakciója az addíció, a polimerizáció és a kondenzáció. Az élelmiszerekben az aldehidek az aminosavak bioszintézise során, az aminosavak enzimes dezaminálásánál vagy transzaminálásánál, az aminosavak és a karbonil-származékok közti reakció során, a telítetlen zsírsavak autooxidációjánál, a linol- és linolénsav enzimes lebontásánál és a karotinoidok átalakulása során képződhetnek. Jellemző illatuk révén a különböző élelmiszerek aromaanyagainak összetevői és szerepet játszanak az élelmiszerek nem enzimes barnulási folyamataiban is. Reakcióik hasonlítanak az aldehidekéhez, de azoknál nehezebben oxidálhatók, aminek során láncszakadás következik be. Többségük jellegzetes, de nem kellemetlen illatú vegyület [19].

Az aldehidek és ketonok jelenléte az élelmiszerekben általában a zsírsavak, aminosavak oxidációjára vagy bakteriális tevékenységből származó metabolitok képződésére utal [28], de a tejtermékek gyártása során is hozzáadhatják azokat a termékekhez [70].

Az élelmiszerek minőségi mutatóinak megállapítására egyes aldehidek és ketonok mennyiségének meghatározásán keresztül is lehetőség van. A diacetil mennyiségének meghatározását a vaj minőségének ellenőrzésére használják [15], de a vegyület mennyisége a joghurtok érettségi fokát is jellemzi [25]. A 3-hidroxi-butanon olyan keton melynek segítségével megállapítható a sajtok érettségi foka [5].

A metil ketonok olyan ketonok melyekben az alkil lánc utolsó szénatomjától számítva visszafelé a második szénatomon egy karbonil funkciós csoport helyezkedik el. Ezeket a vegyületeket gyakran SPME technikával extrahálják az élelmiszerből. A metil ketonok egyes sajtokban mikrobiológiai aktivitás hatására keletkezhetnek [41, 71]. A metil keton 2-nonanon a legtöbb sajtban és a savófehérjében gyakran előforduló vegyület, melyet SPME alkalmazásával azonosítottak [28, 32, 46, 54]. Más sajtokon végzett SPME technikával végzett analízis során megállapították, hogy a sajtok növényi („zöld”) illatához nagymértékben hozzájárul a 2-undekanon [32, 69].

A metil ketonok vizsgálata a gyártási folyamatok ellenőrzésére is alkalmas, mivel zsírsavakból képződnek a tej hőkezelése során [73]. DVB-CAR (Divinylbenzene-Carboxen) SPME szálát alkalmaznak az UHT tejek előállításánál a hőbehatás ellenőrzésére [65]. Megállapították, hogy akár ötvenkétszeres 2-heptanon- és 2-nonanon koncentráció-növekedés is megfigyelhető a pasztörözött tejben a nyers tejhez viszonyítva. A metil keton 2-butanon koncentrációjának csökkenése jelzi, ha a tej elérte fogyaszthatósági, vagy minőségmegőrzési idejének végét. A 2-butanon koncentrációjának csökkenését feljegyezték még joghurt fermentációjának SPME alkalmazásával végzett analízise [60], illetve sajtgyártás során is [66].

Az aldehidek különböző osztályokba tartozó savakból keletkeznek oxidáció útján. A rövid szénláncú aldehidek, mint a 2-metilpropanal és a 3-metilbutanal az aminosavak hőhatás miatt bekövetkező bomlása során keletkeznek [65].

Az aldehidek a tejiparban egyaránt javíthatják, vagy akár ronthatják is az élelmiszerek minőségét. A CAR-PDMS SPME szállal végzett mintaelőkészítés használható a tej romlását jelző komponensek azonosítására [42]. Az aldehidkoncentráció növekedése megmutatja, hogy a tej milyen közel áll fogyaszthatósági, vagy – UHT tejek esetében – minőségmegőrzési idejének lejártához. Az aldehidek koncentrációjának növekedése nemkívánatos jelenség, mivel a vegyületek erős aromával rendelkeznek, és így kellemetlen ízt eredményeznek [28]. Ezzel szemben a kis molekulatömegű aldehidek (kb. ≤ 100 g/mol) a fermentált

tejtermékek esetében kellemes érzékszervi hatást váltanak ki. Az SPME mintaelőkészítést használták már benzaldehid, acetaldehid és különböző acetonek koncentrációjának megállapítására is [66, 69]. Az acetaldehid a joghurt [60], valamint néhány sajttípusban a legnagyobb mennyiségben jelenlévő aldehidként a sajt aromájának kialakításában döntő szerepet játszik [8, 13, 41].

2.3. Észterek

Az észterek általában savak vagy aldehidek és alkohol között fellépő kondenzációs folyamatok során képződnek [30]. Az élelmiszeraromák egyik csoportját képezik, amelyek jelen vannak pl. a sajtokban és gyümölcsökben is [36, 64].

A tejtermékek vizsgálata során CAR-PDMS-SPME szálát használnak az etilacetát és a metilészterek koncentráció-növekedésének megállapítására, mivel ezek a vegyületek tej korának indikátorai [42]. A tejtermékekben az észterek egyik jelentős forrása a zsírsavak észteresedése a gyártási folyamatok során [31, 39, 70]. A tejtermékekben, különösen sajtokban a zsírsav-észterek főleg enzimikus folyamatok hatására keletkeznek [8, 21, 22, 71], de a gyártási folyamatok során a tejkészítményekhez és joghurtokhoz adagolhatják őket is direkt adagolással vagy mesterséges enzimaktivitást előidézve [25, 28, 41, 60, 66, 69, 70].

Az észterek szennyezőanyagként is megjelenhetnek az élelmiszerekben. SPME mintaelőkészítéssel például tejből – vélhetően – a gyártástechnológiában alkalmazott műanyag csövekből kioldódó ftalátokat is azonosítottak [26, 73]. A ftalátok jelenléte élelmiszerekben élelmiszerbiztonsági kockázatot okoz, mert az endokrin rendszert károsító hatásuk van [62]. Ugyancsak Ftalátokat mutattak ki tehéntejből, amelyek a technológiai környezetből származtak. Közülük a di-(2-etilhexilftalát) jelenléte volt a gyakoribb, ha az üzemben PVC csövezetéseket használnak [26].

2.4. Alkoholok

Az alkoholok szénatomokhoz kapcsolódó hidroxil csoporttal rendelkező, a gyümölcsökben és zöldségekben leggyakrabban azonosított vegyületek közé tartoznak, amelyek tejtermékekből is kimutathatók, ideértve a feldolgozatlan tejet is [73].

Az alkoholok a legtöbb tejtermékben jelen vannak. Még a feldolgozatlan tejből is detektálhatók bizonyos egyenes láncú és metilézett alkoholok DVB-CAR-PDMS SPME szál alkalmazásával [73]. A joghurtokban [69] és az Olasz „Fossa” sajtban [28] az alkoholokat az észtereket követően a második leggyakrabban előforduló vegyületként azonosították. A sajtok alkoholtartalmát gyakran SPME mintaelőkészítéssel határozzák meg [5]. A sajtokban a legnagyobb mennyiségben található alkohol rendszerint az etanol [41, 69, 71], bár kecskesajtokban az 1-feniletanol [58] és a 2-butanol van jelen legnagyobb mennyiségben

[22]. Az etanolt a joghurtok és lágy sajtok fermentációjának sikerességét jelző indikátor- komponensként is használják [25, 60]. Más típusú alkoholok jelenléte általában a sajtok érleléséhez használt különböző baktériumtörzsek jelenlétének köszönhető [8, 32, 71]. Komplex alkoholok a zsírsavak és aminosavak enzimikus átalakulása során is keletkeznek. A sajtok alkoholtartalma az idő előrehaladtával csökken, ahogy az alkoholok észterekké alakulnak át [21].

2.5. Kéntartalmú szerves vegyületek

A tejtermékekben előforduló illékony, kéntartalmú szerves vegyületek általában kisméretű, kellemetlen szagú és/vagy ízű molekulák, ezért jelenlétük nem kívánatos [45]. Aminosavak vagy vitaminok bomlástermékeként jelenhetnek meg [23], ennek ellenére bizonyos kéntartalmú szerves vegyületek kedvező hatást is kifejthetnek az élelmiszerekben, mint pl. sajtokban [34].

A tejtermékekben a kéntartalmú szerves vegyületek a hőkezelés során keletkeznek. A kénes vegyületek a tejben, mint a dimetil-szulfid a kéntartalmú aminosavak hőközlés miatt bekövetkező bomlásából származnak [42]. Hasonlóképpen egy másik tanulmányban savófehérjék SPME alkalmazásával végzett analízise során kéntartalmú szerves vegyületeket detektáltak, amelyek fehérjebomlás során keletkeztek [36]. Ezzel ellentétben sajtok esetében a kéntartalmú vegyületek elsősorban mikrobiális aktivitás útján keletkeznek és nem hőközlés hatására [34]. A kén tartalmú szerves vegyületek SPME használatával történő analízise lehetővé tette több jelentős illókomponens detektálását, közöttük az anetiolt, amely a Camembert sajt [32] kecskesajt [22] jellegzetes, fokhagymára emlékeztető szagát okozza.

2.6. Furánok

A furánok öttagú gyűrűt tartalmazó oxigéntartalmú aromás heterociklusos vegyületek. A furánok azóta kerültek a kutatás középpontjába mióta feltételezhetően karcinogén vegyületeket képeznek az élelmiszerek hőkezelése során [37].

A tejtermékek közül a füstölt [41] és a rántott [13] sajtokban nagy mennyiségben mutathatók ki furánvázis vegyületek PDMS-CAR-DVB SPME mintaelőkészítési módszert alkalmazva. Egy esetben egy, a tejtermékekre nem jellemző furánvázis vegyületet a 2-n-oktilfuránt azonosították savófehérjéből. Ez a vegyület jellemzően a húsban és a csontokban fordul elő [36]. Hőkezelés nélküli, pulzáló elektromos erőterrel kezelt fogyasztói tejkben DVB-CAR-PDMS SPME szállal, a kutatók 2(5H)-furanont azonosítottak a termékben [73].

2.7. Fenolok

A fenolok olyan aromás vegyületek, amelyekben egy benzolgyűrűhöz közvetlenül alkoholos hidroxilcso-

port csoport kapcsolódik. A fenolok gőztéranalízises vizsgálata bonyolult folyamat, mivel a legtöbb fenolszármazék nem illékony a mintamátrixal kialakuló erős intermolekuláris kölcsönhatás miatt [55].

A fenolok SPME mintaelőkészítéssel végzett vizsgálatáról tejtermékek esetében csak néhány közleményt találtunk. Sajtok vizsgálata során megállapították, hogy a fenolkoncentráció nő 90 napos érlelés alatt [21]. Egy kutatásban hét különböző etil- és metil-fenolt azonosítottak juh és tehéntejből készült sajtokban [41].

2.8. Terpenoidok

A terpenoidok izoprén egységekből álló vegyületek származékai. A vegyületcsalád SPME mintaelőkészítéssel vizsgálatával megállapítható, hogy az állatok milyen jellegű takarmányozásban részesültek, illetve az, hogy a takarmányozott állatok mely régiókból származnak [1, 13, 25, 27, 41]. Pouloupoulou és mtsai [52, 53] SPME mintaelőkészítéssel vizsgáltak juh- és kecsketejeket és azokból készült tejtermékeket. A vizsgálat során megállapították, hogy a kimutatott terpenoidok az elfogyasztott takarmány biomarkereiként jelenhetnek meg a tejben. Bár a terpének kiemelt fontosságú vegyületek, detektálásuk tejmintákból SPME alkalmazásával nehéz. Ennek oka a tejszír mátrixhatása és az egyes terpének jelentősen különböző gőznyomása [1].

A terpenoidok a tejipari termékekbe elsősorban az elfogyasztott növényi táplálékból kerülhetnek át. A mono- és szeszkviterpén vegyületek kétféleképpen származhatnak át a növényekből a tejbe: az emésztőrendszeren, vagy a légutakon keresztül. Az első esetben a molekulák a növényekből a bendőbe kerülnek, ahol a terpének esetenként kémiai átalakuláson mennek át. Az összes ilyen molekula a növényekből a bendőbe jut, majd a bendőből felszívódik és a vérbe kerül, onnan pedig kiválasztódik a tejbe. A növényekből átszármazó terpének csakúgy, mint a bendőben keletkezők, jól detektálhatók [57]. A második esetben a komponensek a levegőben terjedve bejutnak az állat tüdejébe onnan pedig a vérbe [68]. Az illókomponensek tejbe jutásával, megváltozhatnak annak biológiai és kémiai jellemzői, különösképpen a mikrobiológiai állapota és aromaanyag-tartalma [9, 11, 56, 68].

Az irodalomban fellelhető adatok szerint a különböző termelési területekről (felföld, alföld), évszakokból (tél, nyár) származó tejek összetételükben, érzékszervi tulajdonságaikban, eltérnek egymástól [9, 11, 56].

A tejelő állatok takarmányozása fontos faktor a sajtok karakterének kialakításában, mivel jellemzően befolyásolja a tej zsír-, fehérjetartalmát, ízét, mikroflóráját, valamint a sajt készítésben jelentős szerepet játszó tejsavbaktériumok működését is [17, 29]. Számos kutató említi, hogy a kétszikű növényekkel benőtt legelőn legeltetett állatok tejében határozottan na-

gyobb mennyiségű aromakomponens található, mint a szénával, takarmánnyal, vagy egyszikű növényekkel etetett társaik tejében [24, 67]. Ez a különbség annak tulajdonítható, hogy a zöld (friss) kétszikű növényekben nagyobb mennyiségű terpén – különösen mono- és szeszkviterpének – vegyület található, mint a szénában vagy egyéb takarmányban [40].

Több kutatócsoport talált összefüggést a sajtok érzékszervi, valamint fizikai-kémiai tulajdonságai és az előállítás helye, az állatok takarmányozása, valamint a takarmányból átszármazó vegyületek között [10, 11, 12, 18, 33, 40, 56, 67, 68].

Dumont és Adda [24] megállapították, hogy a szeszkviterpén vegyületek kizárólag nyáron készült Beaufort sajtokban jelentek meg, amikor a tejelő tehénállomány a hegyvidéki legelőkön legelt. Mariaca és mtsai [40] a hegyekben készült Gruyere és Etivaz sajtokban 42 terpén vegyületet azonosítottak, mint a β -pinén, β -mircén, linalool, limonén, α -fellandrin, α -terpinén, δ -3-karén, p -cimol, α -kopaén és α -humulén, melyek szintén jelen vannak a legelőkön fellelhető 13, legfőképpen kétszikű növényben. Bugaud és mtsai [12] terpén komponenseket vizsgáltak olyan sajtokból, melyek különböző területeken legeltetett tehének tejéből készültek. Az eredmények azt mutatták, hogy a vizsgált sajtok terpén profilja összefüggésben állt a legelő botanikai összetételével, valamint, hogy ezek a vegyületek jelentősebb mennyiségben voltak jelen a hegyvidéki, kétszikűeket nagyobb mennyiségben tartalmazó legelőkön, mint a síkvidéken, ahol túlnyomórészt az egyszikű növények teremnek.

Több sajtípusból is végeztek aromakomponens-vizsgálatokat ezek közül a legismertebbek és legnépszerűbbek az Ementáli, Cheddar, Camembert és a Parmigiano [6, 7, 51, 61, 63]. A szerves illókomponensek széles skálája felelős a sajtok aromájáért. Ezek a komponensek a különböző sajtípusokban egymáshoz hasonló vegyületek, de arányaikban eltérések mutatkozhatnak [74]. A szakirodalomban nem találtunk elegendő adatot ahhoz, hogy egyértelműen bizonyítani lehessen a mono- és szeszkviterpén vegyületek sajtok ízére gyakorolt hatását, kivéve a limonént, mely bizonyítottan citrusos aromát kölcsönöz számos sajtban [14].

2. 9. Köszönetnyilvánítás

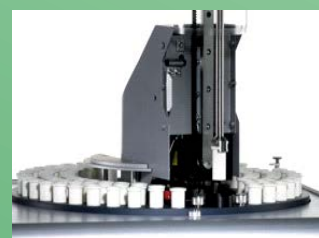
A publikáció elkészítését az EFOP-3.6.1-16-2016-00024 számú „Intelligens szakosodást szolgáló fejlesztések az Állatorvostudományi Egyetem és a Széchenyi István Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Karának együttműködésében” című projekt támogatta. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg.

ÉLELMISZEREK AUTOMATA GYORSELEMZÉSE

Az európai törvények pontosan meghatározzák az Európai Unióban értékesített élelmiszerek címkéinek tartalmát. Az összetevők felsorolása, valamint a tárolási körülményekre, a származási helyre és a lejáratidőre vonatkozó információk mellett szükséges az összes élelmiszer esetében a tápértéket is megadni.

Az egyik kötelező adat a termék fehérjetartalma. A különféle élelmiszerek fehérjetartalma a rapid MAX N exceed automata analízátorral felügyelet-mentes üzemmódban elemezhető. Néhány mérés eredménye látható a táblázatban. A homogenizált minták fehérjetartalmát és az eredmények szórását öt párhuzamos mérésből számolták.

MINTA	BEMÉRÉS	MÓDSZER	FEHÉRJE-FAKTOR	FEHÉRJE %
főtt sonka 	500 mg	kolbász	6,25	21,1 ± 0,10
sertézsír 	250 mg	felvágott	6,25	3,42 ±
véreshurka 	450 mg	felvágott	6,25	13,1 ± 0,08
rozsmaringos pogácsa 	500 mg	növény	6,25	41,6 ± 0,16
jégkrém 	1000 mg	jégkrém	6,38	2,91 ± 0,02
töltött sertésláb 	500 mg	felvágott	6,25	21,0 ± 0,20
csirkemellfilé 	650 mg	hús	6,25	18,9 ± 0,28
zöldséges burgonya-gombóc 	600 mg	gabona	6,25	1,49 ±
zsemle 	500 mg	gabona	6,25	9,12 ± 0,09



A rapid MAX N exceed analízátor ideális választás a különféle élelmiszer minták fehérjetartalmának rutin meghatározásához. N/fehérje tartalom meghatározás néhány perc alatt, évekig stabil, minta-független kalibrációval, kivételesen alacsony karbantartással, amely lehetővé teszi a magas mintaszám feldolgozást felügyeletmentes automata üzemenben, így az ipari minőség-ellenőrzés egyik ideális eszköze. A vonatkozó szabványok által előírt ismételhetőség ill. szórás értékek biztonsággal teljesíthetők. Mintabemérés: 5 mL-es saválló acél tégelyekbe, előcsomagolás szükségessége nélkül, halmazállapot független mérési sorozatokkal. 10 éves kiegészítő garanciák a főegységekre.



elementar
Analysensysteme GmbH.
EXCELLENCE IN ELEMENTS

D 63505 Langenselbold Elementar-Straße 1.
Tel: +49-6184-93930 web: www.elementar.de



AKTIV INSTRUMENT Kft.

ANALITIKAI BERENDEZÉSEK, AUTOMATA ANALIZÁTOROK
1145 Budapest Pétervárad u. 14.
Tel.: (1)-789-2778, Fax: (1)-785-8489
Mail: kozpont@aktivinstrument.hu
web: www.aktivinstrument.hu

Application of the SPME technique for determinate the quality indicators of dairy products

Keywords: milk, dairy products, solid phase microextraction (SPME), fatty acid, aldehyde, ketone, enzyme tanning, amino acid oxidation, flavors, alcohol, sulfur-containing organic compounds, furans, phenols, terpenoids

1. SUMMARY

Solid Phase Microextraction (SPME) is a relatively new extraction technique that combines taking samples from a mixture with a simpler desorption of the components to be analyzed of the unenriched sample in its original state in the analytical instrument. Based on a large number of publications in the literature, the authors describe the possibilities of using the SPME technique in the case of dairy products. The main groups of components that can be detected by the SPME sampling procedure, such as fatty acids, aldehydes and ketones, esters, alcohols, sulfur-containing organic compounds, furans, phenols and terpenoids are presented, through examples in the literature. Due to the limited scope of the manuscript, the authors report only on the possibilities of sample preparation using the SPME technique. Instrumental analytical methods following solid state microextraction, mainly using gas or liquid chromatography, are not described. Details of instrumental analyses are available in the cited literature sources.

2. Introduction

The methods that can be used for the analysis of volatile components are selected on the basis of the amount and nature of the active aroma components, and this can be even more complicated in the case of food samples because of the matrix effect. The success of the analysis depends mainly on how the volatile components, which are often present in negligible amounts, react with the different food ingredients, e.g., fats or carbohydrates.

The analysis of the aroma components in dairy products is a complex task due to the complexity of the sample matrix and the complicated nature of the most commonly used sample preparation methods, such as vacuum distillation or liquid-liquid extraction [20, 38, 40, 59].

Extraction analyses are constantly being updated and new techniques are being developed in order to reduce the extraction time, its solvent and equipment requirements, and to increase the sensitivity of the measurement and ensure wide applicability [49].

The groups of chemical compounds that can be determined by SPME sample preparation play a role in the development of the taste and smell of the products, and act as indicators if there is a quality change in the product (microbiological deterioration, chemical decomposition, contamination).

2. Major groups of compounds that can be detected in dairy products by the SPME method

2.1. Fatty acids

The hydrolysis of natural fats produces aliphatic monocarboxylic acids, which can be grouped according to their carbon chain length, the number, position and configuration of the double bonds and the functional groups [19]. Fatty acids are composed of an alkyl chain and a carboxylic acid functional group connected to it [50]. Fatty acids with carbon numbers between 4 and 12 can be extracted using the SPME technique [2, 16, 35, 42, 73].

Fatty acids and triglycerides are the main energy components of milk. Triglycerides consist of three

¹ Széchenyi István University, Faculty of Agricultural and Food Sciences, Department of Food Science

fatty acid molecules covalently linked to a glycerol molecule [44]. It should be noted that fatty acids are often the precursor compounds of esters, ketones and aldehydes found in foods [47, 48, 72].

Fatty acids are biomarkers of microbiological activity. They are formed during the bacterial degradation of lactose, amino acids and casein, and the transformation of amino acids [3, 69], and contribute significantly to the formation of the volatile aromas in cheeses [21, 28, 71]. Fatty acids with 12 carbon atoms have been detected by the HS-SPME method in cheeses [8] and whey proteins [36].

The SPME technique can also be used to determine the fatty acid profile of different foods. Cheeses and yogurts can be characterized by the relative concentration of fatty acids [4, 25].

According to other authors, measuring the amount and relative ratio of fatty acids is suitable for distinguishing between goat cheese and cheese made from cow's milk, by identifying hexanoic acid which gives goat cheese its characteristic taste and smell [46, 58]. Since the predominant flavor in low-fat cheeses is provided by fatty acids with 4 to 8 carbon atoms and acetic acid approximately in constant concentration ratio [13], the analysis of the fatty acid spectrum is also suitable for the detection of cheese counterfeiting [41].

Fatty acid analysis is also used to determine the effectiveness of treatments used to increase the shelf life of dairy products [73], however, other compounds present in the sample may interfere with the analysis, so defatting of the sample is advised when analyzing other components [43].

2.2. Aldehydes and ketones

Aldehydes and ketones have a carbonyl group to which an alkyl chain and a hydrogen atom are attached in the case of aldehydes and two alkyl chains are attached in the case of ketones [28].

Aldehydes are formed from primary alcohols by mild oxidation and have the general structure R-CHO. They are among the most reactive compounds. Further oxidation of aldehydes produces carboxylic acids. Typical reactions of aldehydes are addition, polymerization and condensation. In foods, aldehydes may form during the biosynthesis of amino acids, the enzymatic deamination or transamination of amino acids, in the reaction between amino acids and carbonyl compounds, during the autooxidation of unsaturated fatty acids, the enzymatic degradation of linoleic and linolenic acids and the transformation of carotenoids. Due to their characteristic odor, they are components of the aroma ingredients of various foods and play a role in the non-enzymatic tanning processes of foods. Their reactions of ketones are similar to those of aldehydes, but they are more

difficult to oxidize, resulting in chain breakage. Most of them are compounds with a characteristic but not unpleasant odor [19].

The presence of aldehydes and ketones in foods generally indicates the oxidation of fatty acids or amino acids, or the formation of metabolites in the course of bacterial activity [28], but may also be added to the products during the manufacture of dairy products [70].

It is also possible to analyze food quality indicators by determining the amount of certain aldehydes and ketones. The determination of the amount of diacetyl is used to check the quality of butter [15], but it can also be used to characterize the degree of ripeness of yogurts [25]. 3-Hydroxybutanone is a ketone that can be used to determine the degree of ripeness of cheeses [5].

Methyl ketones are ketones in which a carbonyl functional group is located on the penultimate carbon atom of the alkyl chain. These compounds are often extracted from foods using the SPME technique. Methyl ketones may form in some cheeses due to microbiological activity [41, 71]. The methyl ketone 2-nonanone is a compound commonly found in most cheeses and whey proteins and has been identified using SPME [28, 32, 46, 54]. Analysis of other cheeses by the SPME technique has shown that 2-undecanone contributes greatly to the plant ("green") aroma of cheeses [32, 69].

The analysis of methyl ketones is also suitable for the control of production processes, as they are formed from fatty acids during the heat treatment of milk [73]. DVB-CAR (Divinylbenzene-Carboxen) SPME fiber is used in the production of UHT milk to check thermal exposure [65]. It has been found that up to a fifty-two-fold increase in 2-heptanone and 2-nonanone concentrations can be observed in pasteurized milk compared to raw milk. A decrease in the concentration of the methyl ketone 2-butanone indicates when the milk has reached the end of its minimum durability or use-by date. Decreases in 2-butanone concentrations have also been recorded during the analysis of yogurt fermentation using SPME [60], and in cheese production [66].

Aldehydes are formed from acids of different classes by oxidation. Lower aldehydes, such as 2-methylpropanal and 3-methylbutanal are formed during the thermal decomposition of amino acids [65].

Aldehydes can both improve or degrade food quality in the dairy industry. Sample preparation with a CAR-PDMS SPME fiber can be used to identify components that indicate milk spoilage [42]. An increase in the concentration of aldehydes shows how close the milk is to the end of its shelf life or, in the case of UHT milk, its minimum durability date. An increase

in the concentration of aldehydes is undesirable, because these compounds have a strong aroma, so their presence results in an unpleasant taste [28]. On the other hand, low molecular weight aldehydes (ca. ≤ 100 g/mol) produce a pleasant organoleptic effect in fermented dairy products. SPME sample preparation has also been used to determine the concentrations of benzaldehyde, acetaldehyde and various acetones [66, 69]. Acetaldehyde plays a basic role in forming the aroma of yoghurt [60] and several cheese, which is the most concentrate aldehyde in that types of cheeses [8, 13, 41].

2.3. Esters

Esters are generally formed by condensation processes between acids or aldehydes and alcohols [30]. They make up one of the groups of food aromas that are present in cheeses and fruits, among other things [36, 64].

In the course of the analysis of dairy products, CAR-PDMS-SPME fibers are used to determine the increase in the concentrations of ethyl acetate and methyl esters, as these compounds are indicators of the age of milk [42]. One of the significant sources of esters in dairy products is the esterification of fatty acids during manufacturing processes [31, 39, 70]. In dairy products, especially cheeses, fatty acid esters are mainly formed by enzymatic processes [8, 21, 22, 71], but can also be added to dairy products and yogurts during production processes either by direct addition or by inducing artificial enzymatic activity [25, 28, 41, 60, 66, 69, 70].

Esters can also appear in foods as contaminants. For example, phthalates supposedly released from plastic tubes used in the manufacturing technology have also been identified in milk using SPME sample preparation [26, 73]. The presence of phthalates in foods poses a food safety risk because they have endocrine disrupting effects [62]. Phthalates have also been detected in cow's milk, also from the technological environment. Of these, the presence of bis(2-ethylhexyl) phthalate was most common, when PVC pipes were used in the plant [26].

2.4. Alcohols

Alcohols are among the most commonly identified compounds in fruits and vegetables, with hydroxyl groups attached to carbon atoms, and they can also be detected in dairy products, including unprocessed milk [73].

Alcohols are present in most dairy products. Certain straight chain and methylated alcohols can even be detected in unprocessed milk using DVB-CAR-PDMS SPME fibers [73]. In yogurts [69] and Italian „Fossa” cheese [28], alcohols have been identified as the second most common group of compounds after esters. The alcohol content of cheeses is often

determined by SPME sample preparation [5]. Ethanol is usually the most abundant alcohol in cheeses [41, 69, 71], although 1-phenylethanol [58] and 2-butanol are present in the largest amounts on goat cheeses [22]. Ethanol is also used as an indicator component of the success of fermentation of yogurts and soft cheeses [25, 60]. The presence of other types of alcohols is usually due to the presence of various bacterial strains used for the ripening of the cheeses [8, 32, 71]. Complex alcohols are also formed during the enzymatic conversion of fatty acids and amino acids. The alcohol content of cheeses decreases over time as alcohols are converted to esters [21].

2.5. Sulfur-containing organic compounds

Volatile sulfur-containing organic compounds in dairy products are generally small molecules with an unpleasant odor and/or taste and their presence is therefore undesirable [45]. They may appear as degradation products of amino acids or vitamins [23], however, certain sulfur-containing organic compounds may also have beneficial effects in foods, such as cheeses [34].

In dairy products, sulfur-containing organic compounds are formed during heat treatment. Sulfur compounds in milk, such as dimethyl sulfide, come from the thermal decomposition of sulfur-containing amino acids [42]. Similarly, in another study, sulfur-containing organic compounds, formed during protein degradation, were detected during the analysis of whey proteins using SPME [36]. On the other hand, in the case of cheeses, sulfur-containing compounds are formed primarily by microbial activity and not due to heat treatment [34]. Analysis of sulfur-containing organic compounds using SPME allowed the detection of several significant volatile components, between the the anethiol, which is responsible for the characteristic garlic like odor of Camembert cheese [32] and goat cheese [22].

2.6. Furans

Furans are oxygen-containing aromatic heterocyclic compounds that contain a five-membered ring. Furans have been the focus of research ever since they were presumed to form carcinogenic compounds during the heat treatment of foods [37].

Among dairy products, large amounts of furan compounds can be detected in smoked [41] and deep-fried [13] cheeses using the PDMS-CAR-DVB SPME sample preparation method. In one case, a furan compound not characteristic of dairy products, 2-n-octylfuran was identified in whey protein. This compound is typically found in meat and bones [36]. 2(5H)-Furanone was identified by researchers in non-heat-treated consumer milk treated with a pulsating electric field using DVB-CAR-PDMS SPME fibers [73].

2.7. Phenols

Phenols are aromatic compounds in which an alcoholic hydroxyl group is directly attached to a benzene ring. Headspace analysis of phenols is a complex process because most phenol derivatives are not volatile due to the strong intermolecular interaction with the sample matrix [55].

Only a few reports were found on the study of phenols with SPME sample preparation in the case of dairy products. In the course of the analysis of cheeses it was found that phenol concentration increases during a 90-day maturation [21]. In another study, seven different ethyl- and methylphenols were identified in cheeses made from sheep's and cow's milk [41].

2.8. Terpenoids

Terpenoids are derivatives of compounds consisting of isoprene units. SPME sample preparation analysis of this compound family can be used to determine the nature of the feeding animals received and the regions the animals fed had come from [1, 13, 25, 27, 41]. Pouloupoulou et al. [52, 53] tested sheep's and goat's milk and dairy products made from them using SPME sample preparation. It was found in the study that the terpenoids detected may appear in milk as biomarkers of the feed consumed. Although terpenes are compounds of critical importance, their detection in milk samples using SPME is difficult. The reason for this is the matrix effect of milk fat and the significantly different vapor pressure of the individual terpenes [1].

Terpenoids can be transferred to dairy products primarily from the food of plant origin consumed. Mono- and sesquiterpene compounds can be transferred from plants to milk in two ways: through the digestive tract or through the respiratory tract. In the first case, the molecules are transferred from the plants to the rumen, where the terpenes occasionally undergo chemical transformation. All of these molecules are transferred from the plants to the rumen, then they are absorbed from the rumen and enter the blood, from where they are excreted into the milk. Terpenes of plant origin, as well as those produced in the rumen, are easy to detect [57]. In the second case, the components spread through the air and enter the animal's lungs and, from there, the blood [68]. As volatile components enter milk, its biological and chemical characteristics, especially its microbiological state and aroma substance content, can change [9, 11, 56, 68].

According to the data available in the literature, milks from different production areas (highlands, lowlands) and seasons (winter, summer) differ in their composition and organoleptic properties [9, 11, 56].

Feeding of dairy animals is an important factor in shaping the character of cheeses, as it typically affects the fat and protein content of milk, its

taste and microflora, as well as the functioning of lactic acid bacteria, which play a significant role in cheese making [17, 29]. It has been mentioned by several researchers that the milk of animals grazed on pastures of dicotyledonous plants contains significantly higher amounts of aroma components than the milk of their counterparts fed with hay, fodder or monocotyledonous plants [24, 67]. This difference is due to the fact that green (fresh) dicotyledonous plants contain higher amounts of terpene compounds, especially mono- and sesquiterpenes, than hay or other feedstuffs [40].

Several research groups have found correlations between the organoleptic and physicochemical properties of cheeses and their place of production, the feeding of the animals and the compounds derived from the feed [10, 11, 12, 18, 33, 40, 56, 67, 68].

Dumont and Adda [24] found that sesquiterpene compounds appeared only in Beaufort cheeses made in the summer, when the dairy herd grazed on mountain pastures. Mariaca et al. [40] identified 42 terpene compounds, such as β -pinene, β -mircene, linalool, limonene, α -phellandrene, α -terpinene, δ -3-carene, *p*-cymol, α -copaene and α -humulene, which are also present in the 13, mainly dicotyledonous plants found in the pastures, in Gruyere and Etivaz cheeses made in the mountains. Bugaud et al. [12] investigated terpene components in cheeses made from the milk of cows grazed in different areas. The results showed that the terpene profile of the cheeses studied was related to the botanical composition of the pastures and that these compounds were present in significantly larger amounts in mountain pastures with larger amounts of dicotyledonous plants than in the lowlands, where typically monocotyledonous plants grow.

Aroma component studies have been performed on several types of cheese, the best known and most popular of which are Emmentaler, Cheddar, Camembert and Parmigiano [6, 7, 51, 61, 63]. A wide range of volatile components is responsible for the aroma of the cheeses. These components are similar compounds in the different types of cheese, but their proportions may differ [74]. No sufficient data was found in the literature to clearly demonstrate the effect of mono- and sesquiterpene compounds on the taste of cheeses, with the exception of limonene, which has been proven to impart a citrus aroma to many cheeses [14].

2.9. Acknowledgment

This publication was supported by project no. EFOP-3.6.1-16-2016-00024 titled „Developments for intelligent specialization in cooperation between the University of Veterinary Medicine and the Faculty of Agricultural and Food Sciences of Széchenyi István University”. The project was supported by the European Union and co-financed by the European Social Fund.

3. References

- [1] Abilleira E., Renobales M., Nájera A. I., Virto M., Ruiz de Gordo J. C., Pérez-Elortondo F.J., Albisu M., Barron L. J. R. (2010): An accurate quantitative method for the analysis of terpenes in milk fat by headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry. *Food Chemistry* **120** 1162–1169.
- [2] Alanis P., Ashkan S., Krauter C., Campbell S., Hasson, A. S. (2010): Emissions of volatile fatty acids from feed at dairy facilities. *Atmospheric Environment* **44** 5084-5092.
- [3] Alves J. A., Lima L. C. D. O., Dias D. R., Nunes C. A., Schwan R. F. (2010): Effects of spontaneous and inoculated fermentation on the volatile profile of lychee (*Litchi chinensis* Sonn) fermented beverages. *International Journal of Food Science and Technology* **45** 2358-2365.
- [4] Ampuero S., Bosset J. O. (2003): The electronic nose applied to dairy products: a review. *Sensors and Actuators B: Chemical* **94** 1-12.
- [5] Barba C., Santa-María G., Flores G., Herraiz M., Calvo M. M. (2010): Enantiomeric analysis of chiral compounds in irradiated foods using multidimensional gas chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58** 752-756.
- [6] Barbieri G., Bolzoni L., Careri M., Mangia A., Parolari G., Spagnoli S., Virgili, R. (1994): Study of the volatile fraction of Parmesan cheese. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **42** 1170-1176.
- [7] Bellesia F., Pinetti A., Pagnoni U., Rinaldi R., Zucchi C., Caglioti L., Palyi, G. (2003): Volatile components of Grana Parmigiano-Reggiano type hard cheese. *Food Chemistry* **83** 55-61.
- [8] Bergamini C. V., Wolf I. V., Perotti M. C., Zalazar C. A. (2010): Characterisation of biochemical changes during ripening in Argentinean sheep cheeses. *Small Ruminant Research* **94** 79-89.
- [9] Buchin S., Martin B., Dupont D., Bornard A., Achilleos C. (1999): Influence of the composition of Alpine highland pasture on the chemical and rheological and sensory properties of cheese. *Journal of Dairy Research* **66** 579–588.
- [10] Buchin S., Salmon J.-C., Carnat A.-P., Berger T., Bugaud C., Bosset J. O. (2002): Identification de composés monoterpéniques, sesquiterpéniques et benzéniques dans un lait d'alpage très riche en ces substances. *Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene* **93** 199–216.
- [11] Bugaud C., Buchin S., Coulon J.-B., Hauwuy A., Dupont D. (2001a): Influence of the nature of alpine pastures on plasmine activity, fatty acids and volatile compounds composition of milk. *Lait* **81** 401-414.
- [12] Bugaud C., Buchin S., Noël Y., Tessier L., Pochet S., Martin B., Chamba J. F. (2001b): Relationships between Abondance cheese texture, its composition and that of milk produced by cows grazing different types of pastures. *Lait* **81** 593-607.
- [13] Cais-Sokolińska D., Majcher, M. (2010): Sensory properties and volatile composition of full and non-fat cheese produce from curd-ripened fried acid tvarog. *Acta Alimentaria* **39** 69-80.
- [14] Capelle N. (1997): Interpretation of results obtained by chromatography-olfaction. Clermont Ferrand: Laboratoire Faveur, Engineering report ENSAIA and DEA de Biotechnologies et Industries alimentaires, 25-36.
- [15] Chen Y., Shirey R. E., Sidisky L. M. (2010): Determination of diacetyl in butter and air samples by SPME coupled with GC-MS. *Chromatographia* **72** 999-1004.
- [16] Cheong K. W., Tan C. P., Mirhosseini H., Chin S. T., Man Y. B. C., Hamid N. S. A., et al. (2011): Optimization of equilibrium headspace analysis of volatile flavor compounds of Malaysian soursop (*Annona muricata*): comprehensive two-dimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometry (GCxGC-TOFMS). *Food Chemistry* **125** 1481-1489.
- [17] Collomb M., Butikofer U., Spahni M., Jeangros B., Bosset J. O. (1999): Fatty acid and glyceride composition of cow's milk fat in high- and lowland regions. *Sciences des Aliments* **19** 97-110.
- [18] Cornu A., Carnat A.-P., Martin B., Coulon J.-B., Lamaison J.-L., Berdagué J.-L. (2001): Solid-phase microextraction of volatile components from natural grassland plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49** 203-209.
- [19] Csapó J., Csapóné Kiss, Zs. (2002): *Tej és tejtermékek a táplálkozásban*. Mezőgazda Kiadó, Budapest, 241-242, 348-350.
- [20] De Frutos M., Sanz J., Martínez-Castro I. (1991): Characterization of artisanal cheeses by GC and GC/MS analysis of their medium volatility (SDE) fraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **39** 524-530.
- [21] Delgado F. J., González-Crespo J., Cava R., García-Parra J., Ramírez R. (2010): Characterisation by SPME-GC-MS of the volatile profile of a Spanish soft cheese P.D.O. Torta del Casar during ripening. *Food Chemistry* **118** 182–189.
- [22] Delgado F. J., González-Crespo J., Cava R., Ramírez R. (2011): Formation of the aroma of a raw goat milk cheese during maturation analysed by SPME-GC-MS. *Food Chemistry* **129** 1156-1163.

- [23] Du X., Song M., Rouseff R. (2011): Identification of new strawberry sulfur volatiles and changes during maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **59** 1293-1300.
- [24] Dumont J. P., Adda J., (1978): Occurrence of sesquiterpenes in mountain cheese volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **26** 364-367.
- [25] Erkaya T., Şengül M. (2011): Comparison of volatile compounds in yoghurts made from cows', buffaloes', ewes' and goats' milks. *International Journal of Dairy Technology* **64** 240-246.
- [26] Feng Y.-L., Zhu J., Sensenstein R. (2005): Development of a headspace solid-phase microextraction method combined with gas chromatography mass spectrometry for the determination of phthalate esters in cow milk. *Analytica Chimica Acta* **538** 41-48.
- [27] Fernández-García E., Imhof M., Schlichthle-Cerny H., Bosset J. O., Nuñez M. (2008): Terpenoids and benzenoids in La Serena cheese made at different seasons of the year with a *Cynara cardunculus* extract as coagulant. *International Dairy Journal* **18** 147-157.
- [28] Gioacchini A. M., De Santi M., Guescini M., Brandi G., Stocchi, V. (2010): Characterization of the volatile organic compounds of Italian 'Fossa' cheese by solidphase microextraction gas chromatography/mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **24** 3405-3412.
- [29] Grandison A.S., Manning D.J., Thomson D.J., Anderson M. (1985): Chemical composition, rennet coagulation properties and flavour of milks from cows grazing ryegrass or white clover. *Journal of Dairy Research* **52** 33-39.
- [30] Heaven M.W., Nash D. (2012): Recent analyses using solid-phase microextraction in industries related to food made into or from liquids. *Food Control* **27** 214-227.
- [31] Innocente N., Marchesini G., Biasutti M. (2011): Feasibility of the SPME method for the determination of the aroma retention capacity of proteose-peptone milk protein fraction at different pH values. *Food Chemistry* **124** 1249-1257.
- [32] Jaillais B., Bertrand V., Auger J. (1999): Cryotrapping/SPME/GC analysis of cheese aroma. *Talanta* **48** 747-753.
- [33] Jeangros B., Troxler J., Conod D., Scheovic J., Bosset J.O., Bütikofer U., Gauch R., Mariaca R., Pauchard J.P., Sieber R. (1997): Etude des relations entre les caractéristiques des erbage et celles du lait, de la crème et du fromage de type L'Étivaz ou Gruyère. *Revue Suisse d'Agriculture Journal* **29** 23-34.
- [34] Kataoka H., Lord H. L., Pawliszyn J. (2000): Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *Journal of Chromatography A* **880** 35-62.
- [35] Larreta J., Vallejo A., Bilbao U., Alonso A., Arana G., Zuloaga O. (2006): Experimental design to optimise the analysis of organic volatile compounds in cow slurry by headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **1136** 1-9.
- [36] Leksrisompong P. P., Miracle R. E., Drake M. (2010): Characterization of flavor of whey protein hydrolysates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58** 6318-6327.
- [37] Liu Y. T., Tsai S. W. (2010): Assessment of dietary furan exposures from heat processed foods in Taiwan. *Chemosphere* **79** 54-59.
- [38] Lubbers S., Landy P., Voilley A. (1998): Retention and release of aroma compounds in food containing proteins. *Food Technology* **52** 68-72 208-214.
- [39] Lubbers S., Butler E. (2010): Effects of texture and temperature on the kinetic of aroma release from model dairy custards. *Food Chemistry* **123** 354-350.
- [40] Majcher M., Qawrowski P., Jeleń H. (2010): Comparison of original and adulterated oscypek cheese based on volatile and sensory profiles. *ACTA Scientiarum Polonorum e Technologia Alimentaria* **9** 265-275.
- [41] Mariaca R. G., Bosset J. O. (1997): Instrumental analysis of volatile (flavour) compounds in milk and dairy products. *Lait* **77** 13-40.
- [42] Marsili R. T. (2000): Shelf-life prediction of processed milk by solid-phase microextraction, mass spectrometry, and multivariate analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48** 3470-3475.
- [43] Mills G. A., Walker V. (2000): Headspace solid-phase microextraction procedures for gas chromatographic analysis of biological fluids and materials. *Journal of Chromatography A* **902** 267-287.
- [44] Moate P. J., Chalupa W., Boston R. C., Lean I. J. (2007): Milk fatty acids. I. Variation in the concentration of individual fatty acids in bovine milk. *Journal of Dairy Science* **90** 4730-4739.
- [45] Mondello L., Costa R., Tranchida P. Q., Chiofalo B., Zumbo A., Dugo P., et al. (2005): Determination of flavor components in Sicilian goat cheese by automated HSSPME-GC. *Flavour and Fragrance Journal* **20** 659-665.
- [46] Moreira N., de Pinho P. G., Santos C., Vasconcelos I. (2011): Relationship between nitrogen content in grapes and volatiles, namely heavy sulphur compounds, in wines. *Food Chemistry* **126** 1599-1607.
- [47] Olbricht K., Ulrich D., Weiss K., Grafe C. (2011): Variation in the amounts of selected volatiles in a model population of *Fragaria Ananassa* Duch. As influenced by harvest year. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **59** 944-952.

- [48] Oliveira I., de Pinho P. G., Malheiro R., Baptista P., Pereira J. A. (2011): Volatile profile of *Arbutus unedo* L. fruits through ripening stage. *Food Chemistry* **128** 667-673.
- [49] Panseri S., Giani I., Mentasti T., Bellagamba F., Caprino F., Moretti V. M. (2008): Determination of flavour compounds in a mountain cheese by headspace sorptive extraction-thermal desorption-capillary gas chromatography-mass spectrometry. *LWT Food Science and Technology* **41** 185-192.
- [50] Pereira J., Pereira J., Câmara J. S. (2011): Effectiveness of different solid-phase micro-extraction fibres for differentiation of selected Madeira island fruits based on their volatile metabolite profile-identification of novel compounds. *Talanta* **83** 899-906.
- [51] Pionnier E., Engel E., Salles C., Le Quere J. L. (2002): Interaction between non-volatile water-soluble molecules and aroma compounds in Camembert cheese. *Food Chemistry* **76** 13-20.
- [52] Pouloupoulou I., Zoidis E., Massouras T., Hadjigeorgiou I. (2012a): Terpenes transfer to milk and cheese after oral administration to sheep fed indoors. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **96** 172-181.
- [53] Pouloupoulou I., Zoidis E., Massouras T., Hadjigeorgiou I. (2012b): Transfer of orally administered terpenes in goat milk and cheese. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* **25** 1411-1418.
- [54] Quach M.L., Chen X. D., Stevenson R. J. (1998): Headspace sampling of whey protein concentrate solutions using solid-phase microextraction. *Food Research International* **31** 371-379.
- [55] Santana C. M., Ferrera Z. S., Padrón M. E. T., Rodríguez J. J. S. (2009): Methodologies for the extraction of phenolic compounds from environmental samples: new approaches. *Molecules* **14** 298-320.
- [56] Schehovic J., Jeangros B., Troxler J., Bosset J. O. (1998): Effets de la composition botanique des herbages pâturés sur quelques composants des fromages de type L'Étivaz ou Gruyère. *Revue Suisse d'Agriculture Journal* **30** 167-171.
- [57] Schlichtherle-Cerny H., Imhof M.I., Fernández-García E., Bosset, J. O. (2004): Changes in terpene composition from pasture to cheese. *Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene* **95** 681-688.
- [58] Serhan M., Linder M., Hosri C., Fanni J. (2010): Changes in proteolysis and volatile fraction during ripening of Darfiyeh, a Lebanese artisanal raw goat's milk cheese. *Small Ruminant Research* **90** 75-82.
- [59] Sides A., Robards K., Helliwell S. (2000): Developments in extraction techniques and their application to analysis of volatiles in foods. *Trends in Analytical Chemistry* **19** 322-329.
- [60] Soukoulis C., Aprea E., Biasioli F., Cappellin L., Schuhfried E., Märk, T. D., et al. (2010): Proton transfer reaction time-of-flight mass spectrometry monitoring of the evolution of volatile compounds during lactic acid fermentation of milk. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **24** 2127-2134.
- [61] Suriyaphan O., Drake M. A., Chen X. Q., Cadwallader K. R. (2001): Characteristic aroma components of British farmhouse Cheddar. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49** 1382-1387.
- [62] Talsness C. E., Andrade A. J. M., Kuriyama S. N., Taylor J. A., vom Saal F. S. (2009): Components of plastic: experimental studies in animals and relevance for human health. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **364** 2079-2096.
- [63] Thierry A., Maillard M. B., Le Quere J. L. (1999): Dynamic headspace analysis of Emmental aqueous phase as a method to quantify changes in volatile flavour compounds during ripening. *International Dairy Journal* **9** 453-463.
- [64] Torrea D., Varela C., Ugliano M., Ancin-Azpili-cueta C., Francis I. L., Henschke P. A. (2011): Comparison of inorganic and organic nitrogen supplementation of grape juice - Effect on volatile composition and aroma profile of a Chardonnay wine fermented with *Saccharomyces cerevisiae* yeast. *Food Chemistry* **127** 1072-1083.
- [65] Vazquez-Landeverde P. A., Velazquez G., Torres J. A., Qian M. C. (2005): Quantitative determination of thermally derived off-flavor compounds in milk using solid-phase micro-extraction and gas chromatography. *Journal of Dairy Science* **88** 3764-3772.
- [66] Verzera A., Condurso C., Romeo V., Tripodi G., Ziino M. (2010): Solid-phase microextraction coupled to fast gas-chromatography for the determination of migrants from polystyrene-packaging materials into yoghurt. *Food Analytical Methods* **3** 80-84.
- [67] Viallon C., Verdier-Metz I., Denoyer C., Pradel P., Coulon J.-B., Berdagué J.-L. (1999): Desorbed terpenes and sesquiterpenes from forages and cheeses. *Journal of Dairy Research* **66** 319-326.
- [68] Viallon C., Martin B., Verdier-Metz I., Pradel P., Garel J.-P., Coulon J.-B., Berdagué J.-L. (2000): Transfer of monoterpenes and sesquiterpenes from forages into milk fat. *Lait* **80** 635-641.

- [69] Vítová E., Mokáňová R., Babák L., Zemanová J., Sklenářová K. (2011): The changes of flavour and aroma active compounds content during production of Edam cheese. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis* **59** 255-262.
- [70] Wang B., Xu S., Sun D.-W. (2010): Application of the electronic nose to the identification of different milk flavorings. *Food Research International* **43** 255-262.
- [71] Wolf I. V., Perotti M. C., Bernal S. M., Zalazar C. A. (2010): Study of the chemical composition, proteolysis, lipolysis and volatile compounds profile of commercial Reggiano Argentino cheese: characterization of Reggiano Argentino cheese. *Food Research International* **43** 1204-1211.
- [72] Xiao Z. B., Zhu J. C., Feng T., Tian H. X., Yu H. Y., Niu Y. W., et al. (2010): Comparison of volatile components in Chinese traditional pickled peppers using HS-SPME-GC-MS, GC-O and multivariate analysis. *Natural Product Research* **24** 1939-1953.
- [73] Zhang S., Yang R., Zhao W., Hua X., Zhang W., Zhang Z. (2011): Influence of pulsed electric field treatments on the volatile compounds of milk in comparison with pasteurized processing. *Journal of Food Science* **76** 127-132.
- [74] Ziino M., Condurso C., Romeo V., Giuffrida D., Verzera A. (2005): Characterization of „Provola dei Nebrodi”, a typical Sicilian cheese, by volatiles analysis using SPME-GC/MS. *International Dairy Journal* **15** 585-59.

 **WESSLING**
Életünk minősége

Ivó- és ásványvizek teljeskörű vizsgálata



Információ:
food@wessling.hu
+36 1 272 2101



A kép illusztráció / Picture is for illustration only

Érzékszervi bírálók látásvizsgálati tesztjei - áttekintés

Kulcsszavak: látásélesség, kontrasztérzékenység, színlátás, szintévesztés, pseudo-izokromatikus színtesztek, anomaloszkóp, színíszkrimináció, színidentifikáció

1. ÖSSZEFOGLALÁS

Az érzékszervi vizsgálatokon a bírálóknak jó általános egészségi állapottal kell rendelkezniük. Nem lehet semmilyen olyan hiányosságuk, amely hatással lehet érzékelésükre, vagy károsan befolyásolhatja érzékszervi teljesítőképességüket, és így hatással lehetnek bírálataik megbízhatóságára. A bíráló látását alapvetően három tényező határozza meg: látásélesség, kontrasztérzékenység és színlátás. Az érzékszervi vizsgálatok nemzetközi gyakorlatában általánosan a színlátást vizsgálják. A szintévesztés vizsgálatát jellemzően az Ishihara pseudo-izokromatikus színteszttel, míg a színíszkriminációs képességet pedig a Farnsworth-Munsell 100 színárnyalat teszt segítségével végzik [1]. A szintévesztők kiszűrésére legpontosabb eszköz az anomaloszkóp. A szintévesztők szűrése azért is fontos, mivel a szintévesztők egyben gyengébb szín-megkülönböztető képességgel és gyengébb szín-identifikációs képességgel rendelkeznek. A színlátással kapcsolatos on-line tesztek eredményeit jelentősen befolyásolja a megjelenítő eszköz és beállításai (monitor felbontása, színhelyes kalibráció), valamint a tesztelés körülményei: vizsgálati geometria (fényforrás, tesztkönyv és a szem relatív helyzete), fényforrás és monitor fotometrikus és spektrális jellege, valamint a szem adaptációs állapota. Sajnos, a szabványos érzékszervi vizsgálatok előírásai nem követelik meg külön az érzékszervi bírálók látásélesség és kontrasztérzékenység vizsgálatát, ugyanakkor e tulajdonságok nyilvánvalóan befolyásolják a vizuális érzékelést, így ezek tesztelése szükséges.

2. Látásélesség (visus)

A látásélesség az éles látás számszerűsített kifejezése. A látásélesség mérési egysége a látószög, ami alatt a tárgyról a szem optikai középvonalába húzódó sugarak által bezárt szöget értjük. Az ép szem feloldóképessége, vagyis az a szög, amely mellett a tárgyról jövő sugarak két szomszédos csapra vagy pálcikára esnek, normál esetben 1' (szögperc), azonban megfelelő világítás mellett akár 50" (szögmásodperc) is lehet. A látásélesség meghatározására a mindennapi gyakorlatban az úgynevezett optotípeket, különböző nagyságú betűket, számokat, gyűrűket (Landolt-gyűrű) tartalmazó táblákat használnak: Snellen-féle tábla, Csapody-féle tábla, Kettessy-féle tábla (**1-2. ábra**). A vizsgálat során egy tábláról kell leolvasni valamilyen

jeleket, betűket, vagy számokat, attól függően, hogy melyik látásélességi tesztet végzik.

A táblán a jelek, számok mérete minden esetben felülről lefelé csökken. Minden egyes ábra úgy van megszerkesztve, hogy meghatározott távolságból nézve az egész ábra 5', elemi részlete 1' alatt látszik. A vizsgálandó személy a jól megvilágított, falra függesztett táblától a fenti meghatározott távolságban, a következő példában 5 m-re foglal helyet. A betűket, egyéb ábrákat felülről lefelé olvastatják vele. A látásélesség jellemzésére a vizus képletét használják: $V=d/D$, ahol d a páciens olvasótáblától való távolsága, D pedig az a távolság, ahonnan a még felismert legkisebb ábra 5' alatt látszik. A vizsgálat elrendezésére jellemző tehát a d érték, míg a D értékkel az

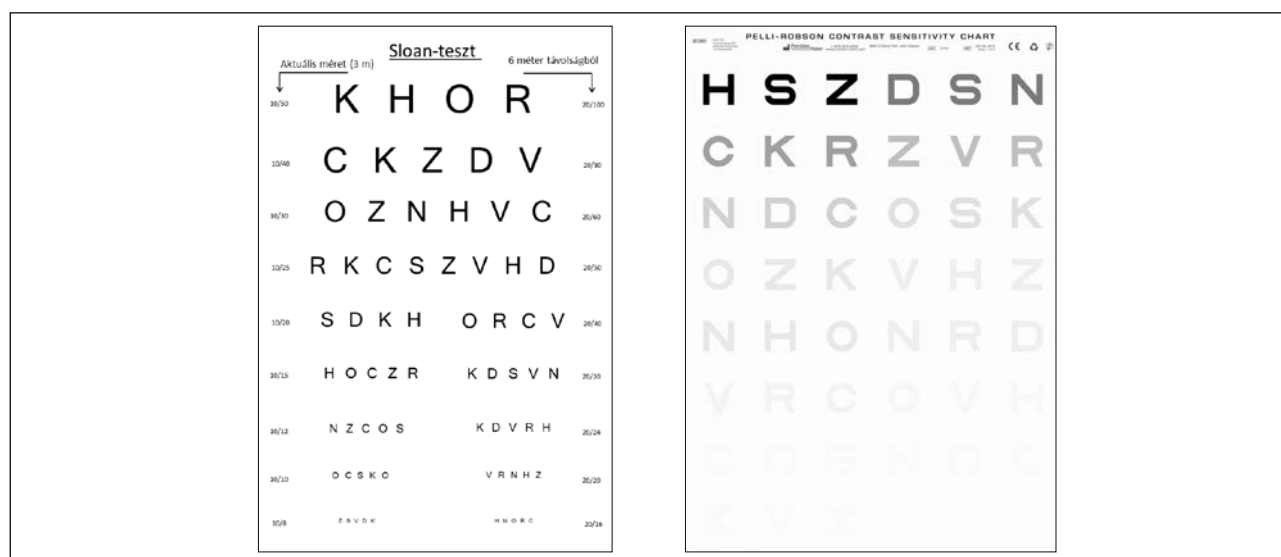
¹ Szent István Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, Árukezelési, Kereskedelmi és Érzékszervi Minősítési Tanszék
² Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Gépészmérnöki Kar, Mechatronika, Optika és Gépészeti Informatika Tanszék

4. Színlátás

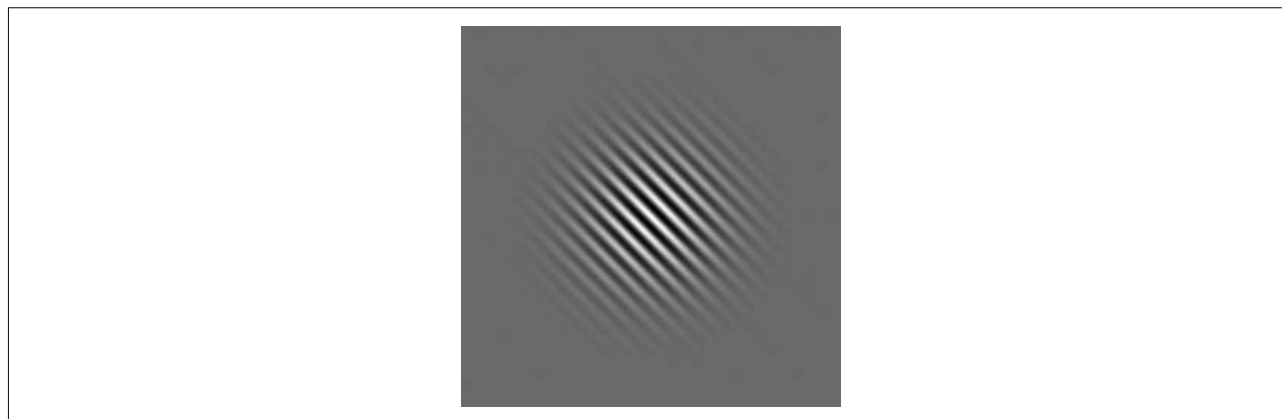
Színlátás vizsgálatának célja lehet egy csoport kiszűrése – erre tipikus példa a színtévesztés detektálására tervezett tesztek – de lehet egyfajta validáció is, az elvégzendő feladathoz – például egy adott termékcsoport vizsgálatához – illesztve. A személyek színlátását célszerű több módszerrel is vizsgálni, mivel az egyes tesztek nem biztosítanak teljes diagnózist. Gyakran előfordul, hogy a módszerek kombinációja adhat megfelelő képet. A színlátás vizsgálatára az alábbi szabványos módszerek terjedtek el az érzékszervi vizsgálatokban:

- színtévesztés azonosítása (pszeudo-izokromatikus teszt-könyvek) [6],
- színtévesztés típusának meghatározása (anomaloszkóp) [6],
- színárnyalat különbségtétel vizsgálata (Farnsworth-Munsell 100 színárnyalat teszt, színkeveréses módszer) [1],
- szürkeárnyalat különbségtétel vizsgálata (keveréses módszer) [1].

A színtévesztés azonosítására általában a látszólagos színegyenlő (pszeudo-izokromatikus) ábragyűjteményes teszt-könyvek terjedtek el. Ezek működésének alapelve, az hogy a kiszűrendő célcsoport úgynevezett konfúziós tengelyek mentén található színpárok közötti különbségeket nem, vagy nehezebben látják, mint az épszínlátók [7]. A színes, kerek vagy szabálytalan alakú pontokból összeállított pöttyös könyvek ábráinak és háttérének pontjai pszeudo-izokromatikus párok alkotnak, világosságuk és szín telítettségük azonos, viszont a színárnyalatuk különböző: a fent említett konfúziós tengelyek valamelyike mentén helyezkednek el. A pszeudo-izokromatikus tesztek közös vonása, hogy az ábrákon a háttérrel alkotó pontoktól elhatárolódik egy objektum. A különbség a fenti tulajdonságok miatt csak színezet alapján határozható meg. A pszeudo-izokromatikus tesztek alapja tehát a színdiszkriminációs képesség vizsgálata. Ezek az objektumok lehetnek számok, szimbólumok, betűk, és jól nyomkövethető minták. Az egyes vizsgálati lapokon a felismerendő elem változatos méretű, véletlenszerűen elhelyezett pontokba van ágyazva. A normál látók a vizsgálati lapokon betűket/számokat/alakzatokat azonosítanak, míg a színtévesztők nem képesek ezeket felismerni [8].



3. ábra. A Sloan-féle teszt (bal) 25% (felső) és 2,5 % kontrasztértéknél és a Pelli-Robson teszt (jobb) [5]
Figure 3. The Sloan test (left) at 25% (upper) and 2.5 % contrast values and the Pelli-Robson test (right) [5]



4. ábra. 100 % kontrasztértékű Gábor minta.
Figure 4. Gábor pattern with 100% contrast value

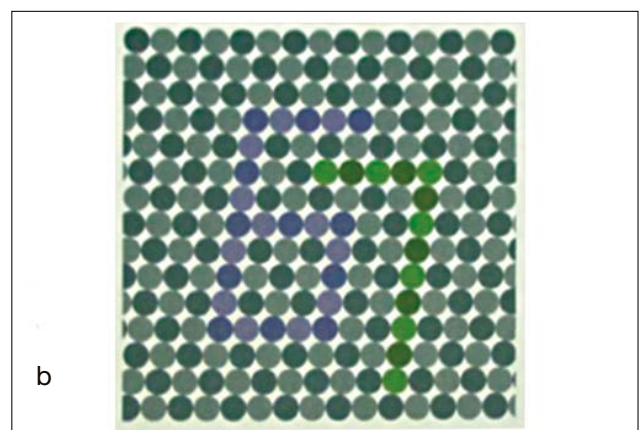
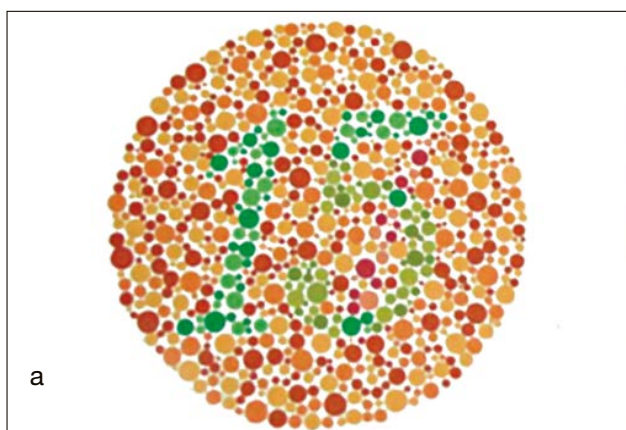
Az érzékszervi vizsgálatokban a bírálati személyek szintévesztésének szabványos szűrésére pszeudo-izokromatikus ábragyűjteményeket javasolnak: Ishihara- (Japán), Velhagen- (Németország), Rjabkin- (Oroszország) és Dvorine- (USA) pszeudo-izokromatikus teszt-könyvek [6].

Úgy a pszeudo-izokromatikus teszt-könyvekkel végzett, mint a további módszereket alkalmazó vizsgálatok során a körültekintően kell kialakítani a tesztelés körülményeit, mert a színárnyalatok megjelenésének megváltozása eltérést eredményezhet az eredményekben. A tesztelés körülményei: vizsgálati geometria (fényforrás, teszt-könyv és a szem relatív helyzete), fényforrás és minták fotometrikus és spektrális jellege, valamint a szem adaptációs állapota. Az ideális szemrevételezési környezet egy megfigyelő doboz, amelyet szín-összehasonlításra terveztek. A tesztelő szeme a mintától az adott tesztre jellemző távolságra kell, hogy legyen, olyan elrendezésben, hogy a minta síkja a látóvonalra merőleges legyen. Ezzel a $45^\circ/0^\circ$ -os vizsgálati geometriával biztosítható, hogy a fény 45° -osan esik a mintára, és a bíráló a mintát merőleges helyzetből nézi. A vizsgálati távolságot az határozza meg, hogy a felismerendő objektumnak mekkora látószög alatt kell látszani. Minden esetben el kell kerülni a minták csillogását, vagy a színes felületekről visszaverődő, kápráztató fényeket, mert zavarja az érzékelést. A vizsgálatához mérsékelt és egyenletes fénysűrűséget kell biztosítani (100 cd/m^2) [6].

A tesztek kiértékelésének helyességéhez fontos figyelembe venni a vizsgált személyek adaptációs állapotát, amit elsősorban a megvilágítás spektrális tartalma határoz meg. A kromatikus adaptáció az a mechanizmus, amely segítségével látórendszerünk folyamatosan alkalmazkodik a környezeti megvilágítás változásaihoz. A színlátást vizsgáló tesztek fejlesztésekor jellemzően D65 megvilágítást megközelítő fényforrások használatát feltételezik, amelyek szórt fényűek, közepes világossági értékűek, széles spektrumú, átlagos nappali fényt adó színhőmérsékletűek. Ha a vizsgálat körülményei ezektől eltérnek, a vizsgált személyeknek minimum 2-3 perc időt kell

biztosítani az adaptációra a teszt elvégzése előtt, valamint az eredmények kiértékelésekor figyelembe kell venni az adaptációs állapotot és annak hatásait. A vizsgálat alatt a teszt paramétereit állandó szinten kell tartani. Szükség esetén a páciens figyelmeztetni kell arra, hogy, hogy mozgásával ne változtassa vizsgálati geometriát, mert módosítja az érzékelését. A vizsgálatokon kívül a pszeudo-izokromatikus ábrák teszt-könyveit zárva kell tartani, és minden külső hatástól védeni szükséges: külső fény, tesztelők érintése, mechanikai hatások (gyűrődés, benyomódás, foltok stb.). A pszeudo-izokromatikus teszt-könyvek gyakorlatban történő alkalmazása egyszerű, diagnosztikában elterjedtek [9,10].

Az Ishihara tesztet Dr. Ishihara Shinobu (1879-1963) japán orvos alkotta meg (1918), aki a japán császári hadsereg sebésze, majd szemésze lett (5. ábra). Később a katonai orvostudományban végzett munkája során kérték fel, hogy dolgozzon ki a katonák szűréséhez egy színlátás tesztet. Az első Ishihara tányérokot kézzel festette meg vízfestékkel, a japán fonetikus szótagírás (hiragana) szimbólumait felhasználva. Jelen formájában az Ishihara teszt-könyv 38 lapból áll. Az első oldalon egy kontroll lap áll, amelyet minden vizsgálati személy azonosítani tud, függetlenül a személy diszkromatográfiájától. A könyvben levő minden egyes fekete papírlapon ($14,5 \text{ cm} \times 19 \text{ cm}$) középre helyezetten egy fehér papírmégyzet ($12,2 \text{ cm} \times 12,2 \text{ cm}$) található, melynek közepében van a „pötytyös” körtányér ($\varnothing=9 \text{ cm}$). Minden tányér különböző nagyságú és színű pszeudo-izokromatikus pontokból áll, amelyeken a normál színlátók számára egy-, vagy kétjegyű számok rajzolódnak ki. A szintévesztőknek egyes tányérokra levő számok azonosítása nehezen megy, vagy egyáltalán nem sikerül. A tesztel azonosítható, hogy a vizsgált személy vörös-zöld tévesztő, vagy sem, de a tévesztés mértékének megállapításához műszeres anomaloszkópos vizsgálat szükséges. Az Ishihara teszt-könyv más színek, például a kék, vagy a sárga színek szín-tévesztéséről nem ad információt. Összefoglalóan az Ishihara teszt-könyv segítségével egy, könnyen megérthető, egyszerűen és gyorsan elvégezhető vizsgálatot lehet végrehajtani, amellyel kiszűrhetők és azonosíthatók a



5. ábra. Ishihara teszt (a) és Hardy Rand Test (b) egy-egy tesztábrája [13,14]
Figure 5. One test figure each for the Ishihara test (a) and the Hardy Rand Test (b) [13,14]

vörös-zöld színtévesztő egyének. Napjainkban ez a legszélesebb körben alkalmazott színtévesztési teszt a napi klinikai gyakorlatban. Megjelenése óta az eredeti Ishihara teszt számos adaptációját hozták létre írástudatlan gyerekek számára [11], illetve készítek kelet-arab számos változatot is [12].

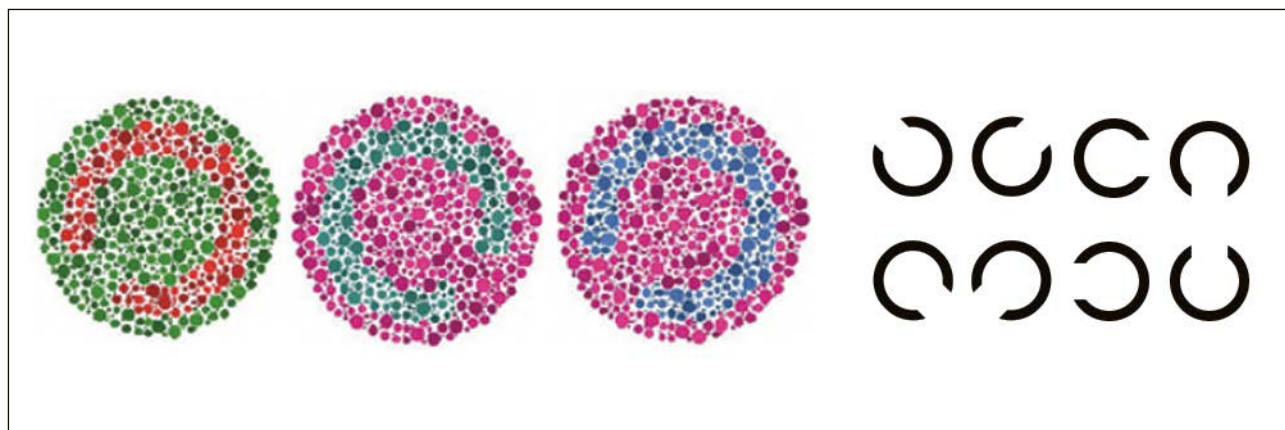
A szabványos módszereken túl is léteznek további pszeudo-izokromatikus tesztek. A pszeudo-izokromatikus ábrák alkalmazásának feltétele, hogy a vizsgálati személy ismeri a felismerendő objektumokat, ezért a gyerekek, vagy analfabéták színlátásának tesztelésére módosított vagy speciális tesztek hoztak létre: geometriai formák (Neitz colour vision worksheet), ismerős tárgyak (Kojima–Matsubara Test), geometriai formák és ismerős tárgyak (Colour Vision Testing Made Easy (CVTME) [15], írástudatlanoknak (Velhagen Pflugert Trident, Ishihara test for Unlettered Persons) [9, 16]. A nemzetközi gyakorlatban elterjedtek még az alábbi pszeudo-izokromatikus tesztek: American Optical Hardy-Rand-Rider plates (AOHRR, Amerikai Egyesült Államok) (5. ábra), ColorLite színlátás vizsgáló teszt (Magyarország), Cambridge Colour Test (Egyesült Királyság), Standard Pseudoisochromatic Plates (SPP) (Amerikai Egyesült Államok).

Az Ishihara teszthez a vizsgálat módszerét tekintve nagyon hasonló a Hardy Rand Ritter Test (HRR). A nyomtatott pszeudo-izokromatikus tesztönyvben, a háttértől egyszerű geometriai alakzatokat: kört, három-szöget vagy X-et kell megkülönböztetni. A teszt a vörös-zöld színtévesztésen (protanomálián – vörösszín-tévesztés – és deutéranomálián – zöldszín-tévesztés) túl a tritanómália (kékszín-tévesztés) meghatározására is alkalmazható, továbbá a színtévesztés mértékéről is információt ad, ezért az Ishihara teszt kiegészítőjeként is ajánlott a használata [17].

A Colorlite színlátás vizsgáló teszt szintén egy nyomtatott, pszeudo-izokromatikus ábragyűjtemény, amelynek segítségével meghatározható, hogy a vizsgált személy ép színlátó, vagy színtévesztő-e. A teszt képes megkülönböztetni deutéranomál és protanomál személyeket, valamint a színtévesztés mértékét 3 kategóriába besorolni. A tesztönyvben

színes sorozatok találhatók: vörös-zöld sorozat (16 db ábra), lila-zöld sorozat (11 db ábra), lila-kék sorozat (11 db ábra). A vizsgálatot mindhárom sorozattal el kell végezni. Minden egyes sorozat a legnagyobb kontrasztú (legkönnyebb) feladattal kezdődik, amely lépésről lépésre nehezedik. A sorozatokon belül az egyes oldalakon egy Landolt-C ábra látható, amely színében különbözik a háttér színétől. A teszt során egy egyszerű feladatot kell elvégezni a páciensnek. A vizsgálati személy feladata, hogy meghatározza, hogy hol szakad meg a gyűrű (C-betű) a tesztábrán. Az ábrák egymást követve nehezednek, így a vizsgálati személy helyes válaszai után egyre nehezebb ábrákat lát, egészen addig, amíg már nem tud helyes választ adni. A teszt gyors, objektív és egyszerű, és a diagnózis mindösszesen 5-10 percet vesz igénybe. A teszt segítségével rendellenesség esetén súlyos, közepes és enyhe deutéranomál vagy protanomál kategóriákba sorolhatóak az alanyok (6. ábra) [18].

Colorlite színlátás vizsgálati rendszer kiegészül egy korrigáló rendszerrel is. A komplett felszerelés 10 pár különböző színű korrekciós szemüveglencsét tartalmaz. A szembe érkező színinger spektrumát színes lencsékkel meg lehet változtatni, ezért a színes lencse a színtévesztést korrigáló technológia sajátja. A lencsék speciális, thermodiffúziós eljárással készülnek a legmegfelelőbb hatás elérése érdekében. A lencsét próbakeretbe lehet behelyezni, amellyel a színvizsgálat elvégezhető. A színtévesztést korrigáló mechanizmusnak fontos és szükséges feltétele az, hogy a szem alkalmazkodni, adaptálódni tudjon az adott színes lencséhez és a környezeti fényviszonyokhoz. A lencsék viselésekor a kromatikus adaptáció jól megvilágított környezetben 2-3 perc alatt bekövetkezik, aminek jele, hogy a színes lencsén keresztül egy fehér lap ismét fehérnek látszik. Amennyiben színtévesztés lehetősége áll fenn, a leírás alapján kiválasztott színes lencse segítségével a pszeudo-izokromatikus színtesztet meg kell ismételni. A korrekciós lencsékkel való visszamerés segít a leghatásosabb korrekciós lencse kiválasztásában, és ellenőrizhető a lencsék színlátásjavító hatása. A hatás ellenőrzését a Colorlite teszt mellett célszerű az Ishihara teszttel is elvégezni. A színes korrekciós rétegek felvihetők dioptria nélküli napszemüvegekhez



6. ábra. Colorlite pszeudo-izokromatikus színteszt három teszt-sorozatának legkönnyebb ábrái és a 8 megoldási lehetőség [18]
Figure 6. Easiest images of the three test series of the Colorlite pseudo-isochromatic color test and the 8 possible solutions [18]

hasonló úgynevezett "plano" lencsére, valamint dioptriás lencsére egyaránt, azaz a színtévesztő alany a már meglévő szemüvegét is korrigálhatja [18].

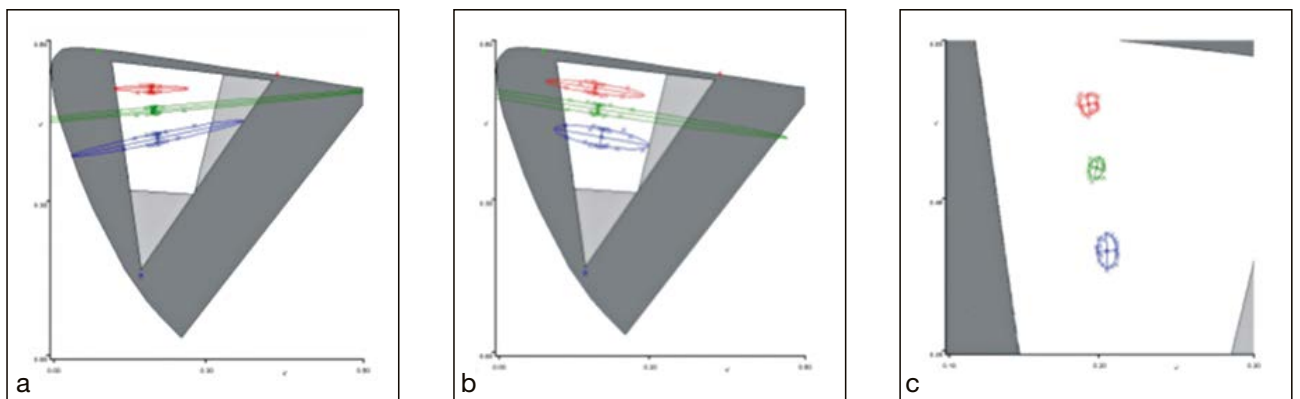
A pseudo-izokromatikus tesztek elterjedt, számítógépes adaptációja a Cambridge Colour Test (CCT), melynek az eddig bemutatott tesztekhez képest egyik legnagyobb előnye az, hogy nem előre festett ábrákkal dolgozik, hanem a monitoron megjeleníthető, lényegesen több szinkombinációval. A vizsgálati körülmények emiatt bővülnek: rendkívül fontos, hogy minden esetben kalibrált monitoron kell elvégezni a méréseket, továbbá a tesztnek speciális hardver igénye van, ami a színmegjelenítésben általános 8 bites színmélységnél jobb felbontásra képes, ezzel mérhetővé téve akár épszínlátó személyek eredményei között különbségeket is. A vizsgálat során a Colorlite teszthez hasonlóan Landolt-C ábrák orientációját kell felismerni, annyi különbséggel, hogy itt csak 4 opció van: fent, lent, jobbra, illetve balra (7. ábra) [19].

A tesztet sötét szobában kell elvégezni olyan módon, hogy vizsgált személy 1° látószög alatt lássa a Landolt-C ábrán megjelenő szakadást. A teszt eredményként a vizsgált személy által észlelhető legkisebb

színkülönbség egy referencia színhez képest a CIE 1976 egyenletes színdiagrammban meghatározott irányok mentén. A referencia szín a pseudo-izokromatikus ábrák háttérének színe. A teszt adaptív: a vizsgált személy válaszai alapján folyamatosan csökken vagy nő a különbség a háttér és a minta színe között, így meghatározva végül a legkisebb észlelhető küszöbértéket. A tesztnek két modulja van: a Tritan teszt elvégzésével a három irány mentén végezhetünk gyors (2-3 perces) vizsgálatot, míg az Ellipszis teszt hosszabb (20-30 perc), 3 db referenciaponthoz képest több irányban végzett mérések alapján a küszöbértékekre illesztett ellipszissel jellemezhetőek azok a területek a referencia színpontok körül, amelyekben belül a vizsgált személy nem tud színárnyalatokat megkülönböztetni. A Tritan teszt 3 vizsgálati irányának alapbeállítása a 3 konfúziós irány, amelyek mentén a deutéranomál, protanomál vagy tritanomál színtévesztők színdiszkriminációs képessége lényegesen rosszabb az épszínlátókénál. A teszt készítői semleges referencia pontban (0,1977; 0,4689) a protán illetve deután irányban 100×10^{-4} , míg a tritán irányban 150×10^{-4} u'v' értékben határozták meg a színtévesztés határát [19], de a szakirodalomban fellelhető ennél szigorúbb ajánlás is [20].



7. ábra. A Cambridge Colour Test kettő tesztábrája [19]
Figure 7. Two test images of the Cambridge Color Test [19]



8. ábra. Cambridge Colour Test Ellipszis teszteredmények egy protanomál (a), deutéranomál (b) és egy ép színlátó (c) személy esetében. Az ép színlátó személy eredményein a tengelyeken más a lépték, összehasonlításként: az ellipszisek középpontjai a három ábrán megegyeznek [20]
Figure 8. Cambridge Color Test Ellipse test results for a protanomalous (a) and a deuteranomalous (b) individual and a person with normal color vision (c). In the case of the results of the person with normal color vision, the scales of the axes are different, and for comparison, the centers of the ellipses are the same in the three figures [20]

A CCT eredményeinek értékelésekor figyelembe kell venni, hogy a színdiszkriminációs képesség életkorfüggő [21], illetve azt, hogy a CCT natív színrendszere, a CIE 1976 színdiagram színérzékelés szempontjából nem tökéletesen egyenletes, ezért a referencia szín változtatása az eredmények várható értékének változását eredményezik. Az ellipszis teszt eredményeire illesztett ellipszisek a szintévesztés típusára jellemző konfúziós irány mentén jelentősen megnyúlnak (8. ábra).

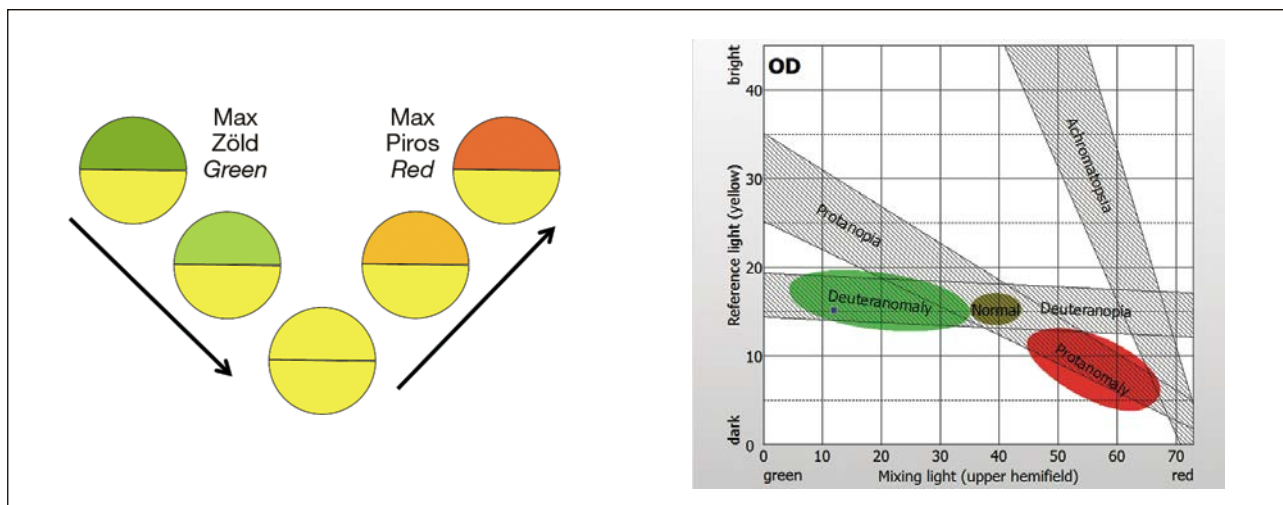
A CCT referencia pontjainak, a pszeudo-izokromatikus ábrákra jellemző fénysűrűség szinteknek és a mérési irányoknak változtathatóságával, valamint a 8 bitet meghaladó színmélységgel a szintévesztés szűrésén és kategorizálásán kívül lehetőséget biztosít arra is, hogy feladat-specifikus, például a vizsgálandó termékek színeihez és a vizsgálati körülmények adaptációs állapotához igazított kísérleti tervhez illesztve, akár épszínlátó megfigyelők eredményeit is összehasonlítsuk.

A szintévesztés típusa meghatározásának legpontosabb módszere a műszeres, anomaloszkópos vizsgálat. A Nagel-féle anomaloszkóp a színegyeztetés módszerét alkalmazza. A 2°-os látótérben egy kör van ketté osztva egy felső és egy alsó kör részre. A feladat mindig ugyanaz, a felső félkörre vetített vörös (R) és zöld (G) monokromatikus fényt kell összekeverni úgy, hogy az alsó félkörre vetített cél színnel (sárga monokromatikus fénnel (Y) azonosnak tűnjön. A felső félkör színkeverésével valójában additív színkeverés valósul meg, az alsó félkör fényereje változtatható mindaddig, amíg a vizsgálati személy mindkét félmezőt egyformának (egyezőnek) nem látja színében és fényerejében is (9. ábra). A vizsgálati eredmények alapján a vizsgálati személyek a különböző területekre (színlátó típusokba és altípusokba) sorolhatók: normál színlátás, protanomália, protanópia (vörösszín-vakság), deuteranomália (zöldszín-vakság), deuteranópia, akromatopszia (csak szürkeárnyalatos)

látás. Az anomaloszkópos vizsgálat ismétlésével, az eredmények bizonytalanságából meghatározható a szintévesztők úgynevezett színstabilitása is, ami a szintévesztés típusa mellett egy fontos jellemző és bizonyos munkakörökben ez alapján határoznak meg kritériumokat [10].

A színárnyalat különbségtétel vizsgálatára egyik legáltalánosabban alkalmazott szabványos módszer a Farnsworth-Munsell 100 színárnyalat teszt (Farnsworth-Munsell colour hue test, FM-100 HUE). A tesztet Dean Farnsworth fejlesztette ki az 1940-es évek elején, más osztályozó tesztekkel együtt – D-15 panel, B-20 és H-16 –, amelyek azonban nem terjedtek el széles körben. A Farnsworth-Munsell-100 teszt a Munsell-színárnyalat, színintenzitás és Munsell értékek állandóságán alapul. Az eljárást az teszi különlegessé, hogy az alkalmazott színek Munsell-értéke, valamint azok intenzitása megegyező, mindössze a színárnyalatban térnek el egymástól [8, 23]. Kezdetben 100 korongból álló tesztek készültek, a kutatások során azonban bebizonyosodott, hogy a 100 korong sorbarakása túlzottan nehéz feladat a bírálók számára, ezért 85-re csökkentették a teszt korongjainak számát. A Farnsworth-Munsell 100 színárnyalat teszt így a mai formájában csak 85 színárnyalatból áll, amely négy különböző, de hasonló árnyalatú szín-sort tartalmaz. A színes tesztkorongok (Ø=2,54 cm) kívül fekete szegélyűek, belül színesek. A színsorok vége le van rögzítve, a feladat a közöttük lévő színárnyalatok sorba rendezése úgy, hogy minden korong a két, hozzá leghasonlóbb korong közé kerüljön. A keretben levő számok a rögzített korongokat jelölik, amelyek a skála végpontjai (10. ábra) [24].

A színlátás zavarait egyszerűen a hibák összegzésével lehet értékelni, valamint a színárnyalat választott és tényleges helyének különbségeivel is. A rendszer több változata interneten is elérhető, jellemzően a korongok helyett kis négyzeteket kell sorba rendezni, de a monitoros vizsgálatoknál fontos megjegyezni,



9. ábra. Az anomaloszkóp látómezejének különböző beállításai és a Heidelberg-féle anomaloszkóp kiértékelő felülete [22]
 Figure 9. Different setting of the field of view of the anomaloscope and the evaluation surface of the Heidelberg anomaloscope [22]

hogy kalibráció nélkül az eredmény helyessége nem garantálható. A teszt nagy előnye, hogy az értékelés kifejezetten egyszerű: a hibákat értékelni lehet egyszerűen a tévesztések összegzésével, vagy akár a színárnyalat választott és tényleges helyének különbségeivel is. A bírálati eredmények alapján három kategóriába sorolhatók a tesztelők [25]:

- Kiváló (jó) eredmény: Ehhez az szükséges, hogy színsorozatonként legfeljebb 4 felcserélés típusú tévesztés történhet, azaz összesen 0-16 hibapont közötti eredmény esetén. A népszerűség ~16 %-a tartozik ebbe a kategóriába;
- Átlagos (normál) eredmény: 16-100 hibapont közötti eredmény esetén. Az emberek ~66 %-a tartozik ebbe a kategóriába;
- Gyenge (csökkent) eredmény: 100 hibapont feletti eredménynél. Ezeknél az eredményeknél érdemes további látási, illetve szintévesztési vizsgálatokat folytatni. A népszerűség ~16 %-a tartozik ebbe a kategóriába;.

A számítógéppel végzett tesztek kiértékelése egy látványos kördiagram formájában hívható le. Az ábra két koncentrikus körből áll. A nagyobb körvonal mentén az egyes színek nevei és számai láthatók (1-85). A kisebb körben a színek nevének kezdőbetűi olvashatók, a külső körvonalnak megfelelően. A tévesztés mértékét egy önmagába visszatérő fekete görbe jelzi. Ahol a fekete görbe a belső, kisebb kör

körvonalára illeszkedik, ott a bíráló helyes választ adott, azaz jó helyre tette a színekorongot. Ahol viszont a fekete görbe a külső kör irányába mutat, ott tévesztés történt. A tévesztés mértéke abból látható, hogy milyen mértékben közelíti meg a külső kör körvonalát a fekete vonal. Minél nagyobb mértékű tévesztésről van szó, a fekete jelölő annál jobban eltávolodik a belső körvonalától (11. ábra) [24].

A színárnyalat-különbségtétel vizsgálatára elsősorban a színkeveréses módszert alkalmazzák. A tesztekhez első lépésben törzsoldatokat készítenek, amelyekhez analitikai minőségű vegyszereket kell felhasználni: víz (ioncserélt vagy desztillált), sárga (kinolinsárga) színanyag, kék (patentkék V) színanyag, piros (karmazsinpiros) színanyag, grafit és kukoricakeményítő. A kész színskála így kémcsövekben bemutatott két 11 tagú színes sorozat. Az egyik sorozat a sárgától zöldön át a kékig tart, a másik pedig a vöröstől a lilán keresztül a kékig terjed. A feladat az egyes színek kiválogatása és sorba rendezése. A sorozatokban 2 hiba megengedett. A szürkeárnyalat különbségtétel vizsgálatára a keveréses módszert alkalmazzák. A kémcsövekben bemutatott 10 tagú szürkeárnyalat teszt során a folyamatosan csökkenő mennyiségű kukoricakeményítőhöz folyamatosan növekvő mennyiségű grafitport adunk. A kémcsöveket véletlen sorrendben kell bemutatni. A feladat a szürkeárnyalatok sorbarendezése [1].



Piros Red	Sárga Yellow			Zöld Green					
84	1	2	3	18	19	20	21	22
Zöld Green	Kék Blue			Lila Purple					
21	22	23	24	39	40	41	42	43
Zöld Green	Zöld Green			Zöld Green					
42	43	44	45	60	61	62	63	64
Lila Purple	Rózsaszín Pink			Piros Red					
63	64	65	66	81	82	83	84	85

10. ábra. A Farnsworth-Munsell-100 teszt és színsorozatai [24]
Figure 10. The Farnsworth-Munsell 100 hue test and its color series [24]

A leíró érzékszervi módszerek segítségével elvégzett termékprofilozások minősége elsősorban a bírálók érzékelésétől és leíró képességétől függ. A termékek színének leírásával kapcsolatban szükséges a színidentifikáció, azaz a termék színmegnevezéseinek meghatározása. Attól függetlenül, hogy a leíróképesség az objektív színmegnevezéshez nélkülözhetetlen, a nemzetközi előírások ezzel kapcsolatban nem tartalmaznak semmiféle követelményt sem tesztelés, sem módszertan tekintetében. A különböző nyelvekben szereplő megnevezések közül 11 nevezhető általánosan alkalmazottnak az angol elnevezéseket véve alapul (Red – piros, Yellow – sárga, Green – zöld, Blue – kék, Purple – ibolya, Brown – barna, Orange – narancs, Pink – rózsaszín, Black – fekete, White – fehér, Gray – szürke). A színidentifikációval foglalkozó legtöbb kutatás is a fenti megnevezéseket veszi alapul [26]. A legtöbb kutatás a színinereket a különböző színábrázolási rendszerekben vett színkoordinátáik alapján azonosítja (Munsell (World Color Survey), Natural Colour System, DIN-system, NF-AFNOR-system) [27]. A színidentifikációs tesztet lényegében ma már kalibrált digitális kijelzőkön keresztül alkalmazzák. Az emberi színidentifikáció egyik lehetséges megközelítése az ingerek spektrális megkülönböztetése és színfogalmi kategóriákba sorolása, melynek segítségével megadhatók a színekhez tartozó színészlelet hullámhossz-tartományok, amelyek színenként eltérő bizonytalansági sávokkal jellemezhetők [28].

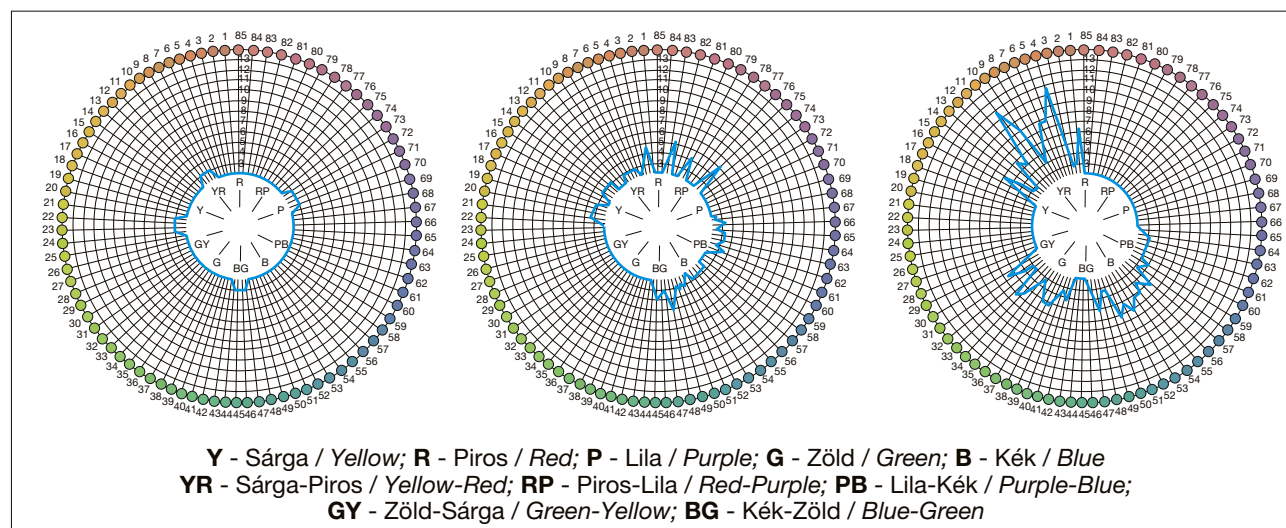
A normál színes látás tesztelésére számos on-line teszt és applikáció készült, sokszor az eredeti tesztek adaptálásával. Fontos hangsúlyozni azonban, hogy a számítógépes színlátással kapcsolatos online tesztek nem alkalmasak klinikai diagnózisra. Az eredeti ábragyűjtemények, korongok, nyomtatott tesztek gyakran nem ugyanazt az eredményt adják, mivel a tesztek eredményét számottevően befolyásolja a megjelenítő eszköz és beállításai (monitor felbontása, színhelyes kalibráció), valamint a tesztelés körülményei: vizsgálati geometria (fényforrás, tesztkönyv és a szem relatív helyzete), fényforrás és monitor fotometrikus és spektrális jellege, valamint a szem adaptációs állapota [6].

5. Összefoglalás

Az érzékszervi vizsgálatokon a bírálóknak jó általános egészségi állapottal kell rendelkezniük. Nem lehet olyan hiányosságuk, amely hatással lehet érzékelésükre, vagy károsan befolyásolhatja érzékszervi teljesítőkéességüket, és így hatással lehet bírálataik megbízhatóságára. A bíráló látását alapvetően három tényező határozza meg: látásélesség, kontrasztérzékenység és színlátás. Az érzékszervi vizsgálatok nemzetközi gyakorlatában általánosan a színlátást vizsgálják. A szintévesztés vizsgálatát jellemzően az Ishihara pszeudo-izokromatikus színteszttel, míg a színdiszkriminációs képességet pedig a Farnsworth-Munsell 100 színárnyalat teszt segítségével végzik [1]. A szintévesztők kiszűrésére legpontosabb eszköz az anomaloszkóp. A szintévesztők szűrése azért is fontos, mivel a szintévesztők egyben gyengébb szín-megkülönböztető képességgel és gyengébb szín-identifikációs képességgel rendelkeznek. A színlátással kapcsolatos on-line tesztek eredményeit jelentősen befolyásolja a megjelenítő eszköz és beállításai (monitor felbontása, színhelyes kalibráció), valamint a tesztelés körülményei: vizsgálati geometria (fényforrás, tesztkönyv és a szem relatív helyzete), fényforrás és monitor fotometrikus és spektrális jellege, valamint a szem adaptációs állapota. Sajnos, a szabványos érzékszervi vizsgálatok nem említik külön az érzékszervi bírálók látásélesség és kontrasztérzékenység vizsgálatát, ugyanakkor ezen tulajdonságok nyilvánvalóan befolyásolják a vizuális érzékelést, ezért ezek tesztelése szükséges.

6. Köszönetnyilvánítás

A kutatás a Bolyai János kutatási ösztöndíj támogatásával készült. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap (ESZA) társfinanszírozásával valósul meg (a támogatási szerződés száma: EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00005). Nyitrai Ákos és Szabó Dániel köszönetét fejezi ki az Élelmiszertudományi Doktori Iskola részére.



11. ábra. A Farnsworth-Munsell-100 teszt kiváló, átlagos és gyenge eredménye [24]
 Figure 11. Excellent, average and poor results of the Farnsworth-Munsell 100 hue test [24]

Vision tests of sensory judges - review

Keywords: visual acuity, contrast sensitivity, color vision, color blindness, pseudo-isochromatic color tests, anomaloscope, color discrimination, color identification

1. SUMMARY

In sensory examinations, judges must be in good general health. They should not have any deficiencies that could affect their perception or adversely affect their sensory performance, and thus can affect the reliability of their judgments. The vision of a judge is basically determined by three factors: visual acuity, contrast sensitivity and color vision. In the international practice of sensory analyses, color vision is generally examined. Color blindness is typically tested using the Ishihara pseudo-isochromatic color test, while color discrimination ability is examined using the Farnsworth-Munsell 100 hue test [1]. The most accurate tool to detect color blind people is the anomaloscope. Screening for color blind people is important because they have both poorer color discrimination abilities and poorer color identification abilities. The results of online color vision tests are significantly affected by the display device and its settings (monitor resolution, color-correct calibration), as well as test conditions: test geometry (relative position of the light source, the test book and the eye), photometric and spectral nature of the light source and the monitor, and the adaptation state of the eye. Unfortunately, the specifications for standard sensory tests do not require the visual acuity and contrast sensitivity testing of sensory judges, however, these properties obviously affect visual perception, so testing them is necessary.

2. Visual acuity (visus)

Visual acuity is a quantified expression of vision sharpness. The unit of measurement for visual acuity is the visual angle, which is the angle between the rays coming from the object and passing through the optical center of the eye. The resolution of a healthy eye, i.e., the angle at which the rays from the object fall on two adjacent rods and cones, is normally 1' (arc minute), but with adequate lighting it can even be 50" (arc seconds). In everyday practice, boards containing so called optotypes, letters, numbers or rings (Landolt rings) of different sizes are used to determine visual acuity: Snellen chart, Csapody chart, Kettesy chart (**Figures 1. and 2.**). During the test, certain signs, letters or numbers have to be read from a board, depending on which visual acuity test is performed.

The size of the signs or numbers on the board always decreases from top to bottom. Each figure is designed so that when viewed from a certain distance, the entire figure is seen at an angle of 5', its elemental details at an angle of 1'. The person to be tested is placed at the distance specified above from the well-lit wall-mounted board, which will be 5 m in the following example. Letters and other figures are read from top to bottom. To characterize visual acuity, the formula for visus is used: $V = d/D$, where d is the distance of the patient from the reading board and D is the distance from which the smallest figure still recognizable is seen at an angle of 5'. Thus, the test arrangement is characterized by the value of d , while the value of D can be used to characterize the individual figures. For an individual with normal visual acuity, $V = 5/5$, i.e., he or she recognizes the figure from 5 meters that can be seen at an angle

¹ Szent István University, Faculty of Food Science, Department of Postharvest Science and Sensory Evaluation

² Budapest University of Technology and Economics, Faculty of Mechanical Engineering, Department of Mechatronics, Optics and Mechanical Engineering Informatics

of 5 arc minutes from a distance of 5 meters. If the value of visus is $V = 5/10$, then the patient was able to recognize the figure from 5 meters, which can be seen at an angle of 5 arc minutes from 10 meters, so this means a better visual acuity than 5/5 [2].

3. Contrast sensitivity

The contrast sensitivity test is a tool for determining whether the visual system is capable of transmitting or filtering spatial and temporal information about the objects seen. It measures the minimum contrast required to detect a visual stimulus [3]. Examination of contrast sensitivity with sine or square wave grids can be a useful auxiliary tool in the assessment of vision loss. While in conventional visual acuity tests the shape to be recognized on the figures changes and the contrast is large and unchanged, in the contrast sensitivity test the shape roughly remains the same and the contrast values change. In most tests, letters or figures must be recognized at low contrast values (Sloan test or Pelli-Robson test (Figure 3), and in other tests, the task is for the subject to identify grids or lines drawn with increasingly less contrast, typically the Gábor pattern (Figure 4). It is important to note that the contrast sensitivity test can never replace the visual acuity test, as its role is limited to situations where sharpness is normal or close to normal [4]. Damage to the optic nerve and macular degeneration can reduce contrast sensitivity. The low-contrast Sloan letter sharpness test records the minimum size at which individuals can perceive letters with a given contrast level (shades of gray on a white background).

In the Pelli-Robson test, the two eyes are examined separately. The task of the subject is to identify the letters in each row, starting at the top of the chart. The threshold value of contrast sensitivity as a log value is the point at which the subject reaches a group of three letters that he or she can no longer identify. The low-contrast Sloan letter sharpness test follows a similar principle. In clinical studies, subjects are examined at 2.5% and 1.25% contrast values, respectively. The tables can be presented on hand cards or in reflective cabinets [4].

4. Color vision

The purpose of a color vision test can be to screen a group (a typical example of this are tests design to detect color blindness), but it can also be a form of validation, tailored to the task to be performed, such as testing a particular product group. It is advisable to test the color vision of individuals in several ways, as a single test does not ensure a complete diagnosis. It is often the case that a combination of methods provides an adequate picture. The following standard methods for examining color vision have been used widely in sensory examinations:

- identification of color blindness (pseudo-isochromatic test books) [6],
- determination of the type of color blindness (anomaloscope) [6],
- hue discrimination test (Farnsworth-Munsell 100 hue test, color mixing method) [1],
- grayscale discrimination test (mixing method) [1].

Apparent color-equal (pseudo-isochromatic) image collection test books have generally been used to identify color blindness. The basic principle for their operation is that for the target group to be screened it is impossible, or at least more difficult, to see the differences between color pairs along so-called confusion axes, than it is for people with normal vision [7]. The dots in the figures and background of polka dot books composed of colored, round or irregularly shaped dots form pseudo-isochromatic pairs, with the same brightness and color saturation, but with different hues: they are located along one of the above-mentioned confusion axes. A common feature of pseudo-isochromatic tests is that an object is separated from the background points in the figures. Due to the above properties, the difference can only be determined on the basis of hue. Thus, pseudo-isochromatic tests are based on the examination of color discrimination ability. These objects can be numbers, symbols, letters or easily traceable patterns. On each test sheet, the element to be recognized is embedded in randomly placed dots of various sizes. People with normal vision identify letters/numbers/shapes on the test sheets, while color blind people are able to recognize them [8]. For the standard screening of judges participating in sensory examinations, pseudo-isochromatic image collections are recommended: Ishihara- (Japan), Velhagen- (Germany), Rjabkin- (Russia) and Dvorine- (USA) pseudo-isochromatic test books [6].

In both examinations using pseudo-isochromatic test books and those using other methods, test conditions should be designed carefully because changes in the appearance of hues may result in discrepancies in the results. Test conditions include the test geometry (relative position of the light source, the test book and the eye), the photometric and spectral characteristics of the light source and the samples, as well as the adaptation state of the eye. The ideal visual environment is an observation box designed for color comparison. The eye of the person tested must be at a distance from the sample characteristic of the given test, in an arrangement so that the plane of the sample is perpendicular to the line of sight. This $45^\circ/0^\circ$ geometry ensures that light falls on the sample at an angle of 45° and the sample is viewed by the judge from a perpendicular position. The test distance is determined by the visual angle at which the object to be recognized should be viewed. In all cases, glistening of the samples or dazzling light

reflected from colored surfaces should be avoided, as these interfere with perception. A moderate and uniform luminance (100 cd/m²) must be ensured for the test [6].

For the evaluation of the tests to be correct, it is important to take into account the adaptation state of the persons examined, which is primarily determined by the spectral content of the illumination. Chromatic adaptation is the mechanism by which our visual system is constantly adapting to changes in ambient lighting. When developing color vision tests, the use of light sources approaching D65 illumination is assumed, which are diffuse with medium brightness and their color temperature corresponds to average daytime light. If the study conditions differ from these, the person examined should be allowed a minimum of 2 to 3 minutes to adapt before performing the test, and the adaptation state and its effects should be taken into account when evaluating the results. During the test, the test parameters must be kept constant. If necessary, subjects should be warned not to change the test geometry with their movement, because it modifies their perception. When not performing tests, the test books of the pseudo-isochromatic diagrams must be kept closed and protected from all external influences: external light, touches by the testers, mechanical effects (creasing, indentations, stains, etc.). The application of pseudo-isochromatic test books in practice is simple, they are widespread in diagnostics [9,10].

The Ishihara test was developed (1918) by Dr. Ishihara Shinobu (1879-1963), a Japanese physician, who was a surgeon and then an ophthalmologist in the Japanese Imperial Army. Later, during his work in military medicine, he was asked to develop a color vision test to screen soldiers. The first Ishihara plates were painted by hand in watercolor, using the symbols of Japanese phonetic syllable writing (hiragana). In its present form, the Ishihara test book consists of 38 pages. On the first page, there is a control sheet that can be identified by all subjects, regardless of that person's dichromatography. Each black sheet of paper in the book (14.5 cm x 19 cm) has a white paper square (12.2 cm x 12.2 cm) in its center, in the middle of which there is a „polka dot” round plate (Ø=9 cm). Each plate consists of pseudo-isochromatic dots of different sizes and colors, which present single or double-digit numbers to people with normal color vision. Color blind people find it difficult or impossible to identify the numbers on certain plates. The test can be used to identify whether or not the subject is red-green color blind, but an instrumental anomaloscopic examination is required to determine the extent of the color blindness. The Ishihara test book does not provide information on color blindness involving other colors, such as blue or yellow. In summary, the Ishihara test book can be used to perform an easy-to-understand, simple and quick test to screen for and identify red-green color blind individuals. Today, this is the most widely used

color blindness test in daily clinical practice. Since its publication, many adaptations of the original Ishihara test have been developed for illiterate children [11], as well as several versions in Eastern Arabic [12].

In addition to standard methods, there are other pseudo-isochromatic tests. The condition for using pseudo-isochromatic diagrams is that the subject knows the objects to be recognized, therefore, modified or special tests have been developed to test the color vision of children or illiterate people: geometric shapes (Neitz color vision worksheet), familiar objects (Kojima-Matsubara Test), geometric shapes and familiar objects (Color Vision Testing Made Easy (CVTME) [15], for the illiterate (Velhagen Pflugertrident, Ishihara test for Unlettered Persons) [9, 16]. The following pseudo-isochromatic tests are also widely used in international practice: American Optical Hardy-Rand-Rider plates (AOHRR) (USA), ColorLite color vision test (Hungary), Cambridge Color Test (UK), Standard Pseudoisochromatic Plates (SPP) (USA).

The Hardy Rand Ritter Test (HRR) is very similar to the Ishihara test in terms of the test method. In the printed pseudo-isochromatic test book, simple geometric shapes must be distinguished from the background: circles, triangles or Xs. In addition to red-green color blindness (protanomaly – red color blindness – and deuteranomaly – green color blindness), the test can also be used to determine tritanomaly (blue color blindness), and it also provides information on the extent of color blindness, so it is recommended as a supplement to the Ishihara test [17].

The Colorlite color vision test is also a printed collection of pseudo-isochromatic images that can be used to determine whether a subject has normal color vision or is color blind. The test is able to distinguish between people with deuteranomaly and protanomaly, and to classify the extent of color blindness into 3 categories. In the test book, there are color series: a red-green series (16 images), a purple-green series (11 images) and a purple-blue series (11 images). The test must be performed with all three series. Each series begins with the highest contrast (easiest) task and becomes harder with each step. Within the series, each page shows a Landolt C image that is different in color from the background. During the test, the subject has to perform a simple task. The task of the subject is to determine where the break is in the ring (letter C) in the test image. The images become progressively harder, so after the test subject's correct answer, they see increasingly difficult images, until they can no longer give a correct answer. The test is quick, objective and simple, and the diagnosis takes only 5 to 10 minutes to establish. In case of a disorder, the test can be used to classify subjects into categories with severe, moderate or mild deuteranomaly or protanomaly (**Figure 6**) [18].

The Colorlite color vision test system is complemented by a correction system. The complete set includes 10 pairs of differently tinted corrective eyeglass lenses. The spectrum of the color stimulus that reaches the eye can be altered with colored lenses, so colored lenses are a feature of color loss correction technology. The lenses are made by a special thermodiffusion process to achieve the most appropriate effect. The lenses can be placed in a test frame to perform the color test. An important and necessary condition of the color blindness correction mechanism is that the eye can adapt to the given color lens and ambient light conditions. When wearing the lenses, chromatic adaptation occurs within 2 to 3 minutes in a well-lit environment, a sign of which is that a white sheet appears again white when viewed through the colored lens. If there is a possibility of color blindness, the pseudo-isochromatic color test must be repeated using the colored lens selected on the basis of the description. Reassessment with corrective lenses helps to select the most effective corrective lenses and the color vision enhancing effect of the lenses can be checked. In addition to the Colorlite test, it is advisable to check the effect with the Ishihara test as well. The colored correction layers can be applied to so-called "plano" lenses similar to no diopter sunglasses, as well as to lenses diopter lenses, i.e., the existing glasses of a color blind subject can also be corrected [18].

A common computer adaptation of pseudo-isochromatic tests is the Cambridge Color Test (CCT), one of the biggest advantages of, compared to the tests presented so far, is that it does not work with pre-painted images, but with images that can be displayed on the monitor, with significantly more color combinations. For this reason, the list of test conditions is longer: it is extremely important that the measurements be performed using a calibrated monitor, and the test has special hardware requirements, meaning a resolution that is better than the standard 8-bit color depth, making it possible to measure even differences between people with normal color vision. Similar to the Colorlite test, the orientations of Landolt C images have to be recognized during the examination, with the difference that there are only 4 options here: top, bottom, right and left (**Figure 7.**) [19].

The test should be performed in a dark room in such a way that the person performing the measurement sees the break in the Landolt C image at a visual angle of 1°. The result of the test is the smallest color difference observed by the subject compared to a reference color along the directions defined in the CIE 1976 uniform color chart. The reference color is the background color of the pseudo-isochromatic images. The test is adaptive: based on the subject's responses, the difference between the color of the background and the sample is continuously decreasing or increasing, thus ultimately determining the lowest detectable threshold. The test has two

modules: by performing the Tritan test, we can carry out a fast (2 to 3 minutes) examination along the three directions, while the Ellipse test is longer (20 to 30 minutes), the areas around the reference color points within which the subject cannot distinguish between color shades can be characterized by an ellipse fitted to the threshold values, based on measurements in several directions compared to the 3 reference points. The default setting for the 3 test directions of the Tritan test are the 3 confusion directions, along which the color discrimination abilities of deuteranomalous, protanomalous and tritanomalous color blind people are significantly worse than that of people with normal vision. The limit of color blindness was determined by the preparers of the test at the neutral reference point (0.1977; 0.4689) in the protan and deutan directions at 100×10^{-4} , while in the tritan direction at 150×10^{-4} u'v' value [19], but more stringent recommendations can also be found in the literature [20]. When evaluating CCT results, it should be taken into account that the color discrimination ability is age-dependent [21], and also that the native color system of CCT, the CIE 1976 color chart is not uniform in terms of color perception, therefore, a change in the reference color leads to a change in the expected value of the results. The ellipses fitted to the results of the ellipse test elongate significantly along the confusion direction characteristic of the type of color blindness (**Figure 8.**).

With the variability of its reference points and the luminance levels and measurement directions characteristic of the pseudo-isochromatic images, as well as its color depth exceeding 8 bits, in addition to screening for and categorizing color blindness, CCT also provides an opportunity to compare the results of people with normal color vision, with a task-specific experimental design, such as one fitted to the colors of the products to be tested and the adaptation state of the test conditions.

The most accurate method for determining the type of color blindness is the instrumental examination with an anomaloscope. Nagel's anomaloscope uses the color matching method. In the field of view of 2°, a circle is divided into an upper and a lower part. The task is always the same, the red (R) and green (G) monochromatic light projected on the upper semicircle must be mixed so that it appears to be the same as the target color projected on the lower semicircle (yellow monochromatic light, Y). Color mixing in the upper semicircle actually results in additive color mixing, and the brightness of the lower semicircle can be adjusted until the subject sees both semicircles as the same (identical) both in terms of color and brightness. Based on the test results, subjects can be classified into different areas (color vision types and subtypes): normal color vision, protanomaly, protanopia (red color blindness), deuteranomaly (green color blindness), deuteranopia, achromatopsia (grayscale only) vision. By repeating the anomaloscope examination, the so-

called color stability of color blind people can also be determined from the uncertainty of the results, which is an important characteristic in addition to the type of color blindness and in some jobs criteria are defined on the basis of this [10].

One of the most commonly used standard methods for testing color hue discrimination is the Farnsworth-Munsell 100 color hue test (FM-100 HUE). The test was developed by Dean Farnsworth in the early 1940s, along with other classification tests, such as the D-15 panel, B-20 and H-16, which, however, have not gained widespread use. The Farnsworth-Munsell-100 test is based on the consistency of the Munsell hue, the color intensity and the Munsell values. What makes the procedure special is that the colors used have the same Munsell value and intensity, they only differ from each other in hue [8, 23]. Initially, tests consisting of 100 disks were constructed, but research has shown that arranging 100 disks is too difficult a task for the judges, so the number of disks was reduced to 85. Thus, today the Farnsworth-Munsell 100 color hue test consists of only 85 hues, containing four different color series of similar hue. The colored test disks ($\varnothing=2.54$ cm) have black edges on the outside and a colored inner part. The ends of the color series are fixed, the task is to arrange the hues between them, so that each disk is between the two disks most similar to it. The numbers in the frame indicate the fixed disks, which are the endpoints of the scale (Figure 10.) [24].

Disorders of color vision can be assessed simply by summing up the errors, as well as by the differences between the chosen and actual locations of the color hues. several versions of the system are available on the internet, typically small squares have to be arranged instead of disks, but in the case of tests performed using monitors, it is important to note that the accuracy of the results cannot be guaranteed without calibration. The great advantage of the test is that the assessment is extremely simple: errors can be evaluated simply by summing up the mistakes or even by the differences between the chosen and actual locations of the color hues. Based on the evaluation results, judges can be classified into three categories [25]:

- Excellent (good) result: This requires that a maximum of 4 swapping type of errors can occur in each color series, i.e., the number of errors is in the 0-16 range. ~16 % of the population falls into this category.
- Average (normal) result: a result between 16 and 100 errors. ~66% of people fall into this category.
- Poor (reduced) result: a result above 100 errors. In the case of these results, it is recommended to perform further vision and color blindness tests. ~16% of the population falls into this category.

The evaluation of computer-based tests can be called up in the form of an impressive chart. It consists of two concentric circles. Along the larger circle, the colors and numbers of each color disk are displayed (1-85). The smaller circle shows the initials of the colors, corresponding to the outer circle. The degree of error is indicated by a black curve returning to itself. Where the black curve fits the outline of the inner, smaller circle, the judge gave the correct answer, i.e., the color disk was placed in the right place. Where, on the other hand, the black curve points in the direction of the outer circle, a mistake has been made. The degree of error is shown by the extent to which the black line approaches the arc of the outer circle. The greater the degree of error, the further away the black marker is from the inner circle (Figure 11.) [24].

The color mixing method is mainly used to examine color hue discrimination. The first step in the tests is the preparation of stock solutions using analytical grade chemicals: water (deionized or distilled), yellow color substance (quinoline yellow), blue color substance (patent blue V), red color substance (crimson red), graphite and corn starch. The finished color scale is thus two color series of 11 members each presented in test tubes. One of the series ranges from yellow through green to blue, while the other from red through purple to blue. The task is to select the colors and arrange them in order. Two errors are allowed in each series. For the examination of grayscale distinction, the blending method is used. During the 10-member grayscale test presented in test tubes, a continuously increasing amount of graphite powder is added to a continuously decreasing amount of corn starch. The test tubes are presented in a random order. The task is to put the shades of gray in order [1].

The quality of product profiling performed using descriptive sensory methods depends primarily on the perceptions and descriptive abilities of the judges. In connection with the description of the color of the products, color identification, i.e., the determination of the color description of the product is necessary. Even though descriptive ability is essential for objective color designation, international standards do not contain any testing or methodology requirements in this regard. Based on English names, 11 of the designations in the different languages can be considered as commonly used (Red, Yellow, Green, Blue, Purple, Brown, Orange, Pink, Black, White, Gray). Most research on color identification is also based on the above designations [26]. Most research identifies color stimuli based on their color coordinates in different color rendering systems (Munsell (World Color Survey), Natural Color System, DIN-system, NF-AFNOR-system) [27]. Color identification tests today are essentially used through calibrated digital displays. One possible approach to human color identification is spectral differentiation of stimuli and classifying them into color concept categories, which can be used to specify color

perception wavelength ranges associated with the colors, which can be characterized by different uncertainty bands for each color [28].

A number of online tests and applications have been developed to test normal color vision, often by adapting the original tests. However, it is important to stress that computerized online color vision tests are not suitable for clinical diagnosis. The original image collections, disks, printed tests give different results, because the results of the tests are significantly influenced by the display device and its settings (monitor resolution, color-correct calibration), as well as the testing conditions: the test geometry (relative position of the light source, the test book and the eye), the photometric and spectral nature of the light source and the monitor, and the adaptation state of the eye [6].

5. Summary

In sensory examinations, judges must be in good general health. They should not have any deficiencies that could affect their perception or adversely affect their sensory performance, and thus can affect the reliability of their judgments. The vision of a judge is basically determined by three factors: visual acuity, contrast sensitivity and color vision. In the international practice of sensory analyses, color vision is generally examined. Color blindness is typically tested using the Ishihara pseudo-isochromatic color test, while color discrimination ability is examined using the Farnsworth-Munsell 100 hue test [1]. The most accurate tool to detect color blind people is the anomaloscope. Screening for color blind people is important because they have both poorer color discrimination abilities and poorer color identification abilities. The results of online color vision tests are significantly affected by the display device and its settings (monitor resolution, color-correct calibration), as well as test conditions: test geometry (relative position of the light source, the test book and the eye), photometric and spectral nature of the light source and the monitor, and the adaptation state of the eye. Unfortunately, standard sensory tests do not specifically mention the visual acuity and contrast sensitivity testing of sensory judges, however, these properties obviously affect visual perception, so testing them is necessary.

6. Acknowledgment

The research was supported by the János Bolyai research bursary. The project is supported by the European Union, co-supported by the European Social Fund (ESF) (grant agreement number: EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00005). Ákos Nyitrai and Dániel Szabó express their gratitude to the Doctoral School of Food Science.

7. References

- [1] MSZ EN ISO 8586:2014 Érzékszervi vizsgálat. Általános útmutató a kiválasztott bírálók és az érzékszervi szakértő bírálók kiválasztásához, képzéséhez, valamint folyamatos ellenőrzéséhez (ISO 8586:2012 2014-06-15-i helyesbített változat).
- [2] Davson, H. (1980): Front Matter. Physiology of the Eye, iii. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-206745-7.50001-4>. (Hozzáférés / Aquired: 12.07.2020)
- [3] Jindra, L. F., Zemon, V. (1989): Contrast sensitivity testing: a more complete assessment of vision. *Journal of Cataract & Refractive Surgery*, 15(2), 141-148.
- [4] Liu, G. T., Volpe, N. J., Galetta, S. L. (2019): The Neuro-Ophthalmic Examination. Liu, Volpe, and Galetta's Neuro-Ophthalmology, 7-36. doi:10.1016/b978-0-323-34044-1.00002-x (Hozzáférés / Aquired: 09.09.2020)
- [5] Schinzel, J., Zimmermann, H., Paul, F., Ruprecht, K., Hahn, K., Brandt, A. U., & Dörr, J. (2014): Relations of low contrast visual acuity, quality of life and multiple sclerosis functional composite: a cross-sectional analysis. *BMC neurology*, 14(1), 31.
- [6] MSZ ISO 11037:2014 Érzékszervi vizsgálat. Irányelvek a termékek színének érzékszervi bírálatára.
- [7] Luo, M. R. (2016): Encyclopedia of Color Science and Technology. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0851-3>. (Hozzáférés / Aquired: 25.09.2020)
- [8] Dain, S. J., (2004): Clinical colour vision tests. *Clinical and Experimental Optometry*, Volume 87, Issue 4-5, 276-293.
- [9] Birch, J. (2001): *Diagnosis of Defective Colour Vision*, 2nd edn. Butterworth Heinemann, Oxford.
- [10] Wenzel, K. (2013): Színtan. Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Gépészmérnöki Kar, Mechatronika, Optika és Gépészeti Informatika Tanszék. 1-192.
- [11] Choi, S.Y., Hwang, J. (2009) : Ishihara test in 3- to 6-year-old children. *Jpn. J. Ophthalmol.* 53, 455-457.
- [12] Heidary, F., Gharebaghi, R. (2013): A modified pseudoisochromatic ishahara colour vision test based on eastern arabic numerals. *Med. Hypothesis Discov. Innov. Ophthalmol.* 2(3):83-5.
- [13] Schiefer, U., Wilhelm, H., Hart, W., & Editors. (2007): *Clinical Neuro-Ophthalmology - A Practical Guide*. Springer.
- [14] <https://lombartinstrument.com/store/ishihara-38-plate-book-test> (Hozzáférés / Aquired: 22.04.2020)

- [15] Neitz, M., Neitz, J. (2001): A new mass screening test for color-vision deficiencies in children. *Color Res. Appl.* 26, S239–49.
- [16] Velhagen, K., Broschmann, D. (2002): Tafeln und Prüfung des Farbensinnes. 29 Auflage. (Színlátásvizsgáló táblák). Budapest, Medicina.
- [17] Birch, J. (2010): Identification of red-green colour deficiency: Sensitivity of the Ishihara and American Optical Company (Hard, Rand and Rittler) pseudo-isochromatic plates to identify slight anomalous trichromatism. *Ophthalmic and Physiological Optics*, 30(5), 667–671. <https://doi.org/10.1111/j.1475-1313.2010.00770.x>. (Hozzáférés / Acquired: 04.15.2020)
- [18] <https://www.colorlitelens.com/> (Hozzáférés / Acquired: 17.05.2020)
- [19] Mollon, J. D., & Regan, B. C. (2000): *Handbook of the Cambridge Colour Test*. London, UK.
- [20] Ventura, D. F., Silveira, L. C. L., Rodrigues, A. R., De Souza, J. M., Gualtieri, M., Bonci, D., & Costa, M. F. (2010): Preliminary Norms for the Cambridge Colour Test. In John D Mollon, J. Pokorny, & K. Knoblauch (Eds.), *Normal and Defective Colour Vision*.
- [21] Paramei, G. V, Oakley, B. (2014): Variation of color discrimination across the life span. *Journal of the Optical Society of America A: Optics and Image Science, and Vision*, 31(4), A375–A384.
- [22] Samu, K. (2005): Világosság észlelet kompenzált színlátás-vizsgáló tesztek megvalósítása számítógéppel vezérelt CRT képernyőn. Doktori értekezés, Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem. 1-103.
- [23] Farnsworth, D. (1943): The Farnsworth-Munsell 100-hue and dichotomous tests for color vision. *JOSA*, 33(10), 568-578.
- [24] <https://munsell.com/faqs/what-does-score-farnsworth-munsell-100-hue-test-mean/> (Hozzáférés / Acquired: 19.10.2020)
- [25] Lausegger, G., Spitzer, M., & Ebner, M. (2017): Omnicolor—a smart glasses app to support colorblind people. *International Journal of Interactive Mobile Technologies*, 11(5), 161-177.
- [26] Le Rochellec, J., Viénot, F. (1995): Contribution of two colour opponent mechanism to Fechner-Benham subjective colours. In B. Drum (Ed.), *Colour Vision Deficiencies XII. Documenta Ophthalmologica Proceedings Series, vol 57.*, (pp. 251–258): Dordrecht: Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-011-0507-1_30 (Hozzáférés / Acquired: 16.05.2020)
- [27] Kay, P., Berlin, B., Maffi, L., Merrifield, W. R., Cook, R. (2009): *The world color survey*. Stanford: Centre for the Study of Language & Information.
- [28] Nagy, B.V., Németh, Z., & Ábrahám, Gy. (2009): Human wavelength identification testing and numerical analysis. *Periodica Polytechnica*, 52(2), 77–81. <https://doi.org/10.3311/pp.me.2008-2.07>. (Hozzáférés / Acquired: 14.04.2020)

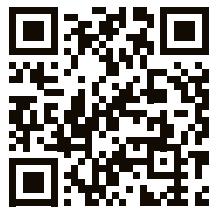
Tisztelt Olvasóink!

A WESSLING Hungary Kft. immáron több mint 25 éve biztosít innovatív megoldásokat, megbízható vizsgálatokat, személyre szabott tanácsadást a környezetvédelmi és az élelmiszerbiztonsági elemzésektől kezdve a munkahelyi- és a gyógyszervizsgálatokon, valamint a gyógyszer-felszabadításon át egészen a törvényi követelményeknek való megfelelésig.

A fenti szolgáltatások mellett Újpest szívében található laboratóriumunk Tudásközpontként is funkcionál, ahol a különböző vizsgálatok mellett nagy hangsúlyt fektetünk oktatói, kutatói tevékenységeinkre is. Figyelmükbe ajánljuk éppen ezért a WESSLING Hungary Kft. alábbi online kommunikációs csatornáit, amelyeket böngészve bővebb információkat, felvilágosítást, valamint érdekes és értékes cikkeket és tájékoztató anyagokat találnak.



laboratorium.hu



mikromuanyag.hu



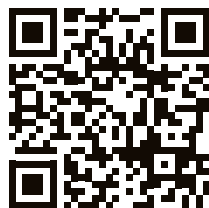
doppingmentes.hu



eviko.hu



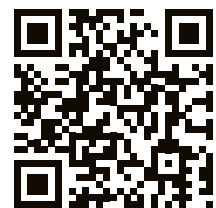
biomi.hu



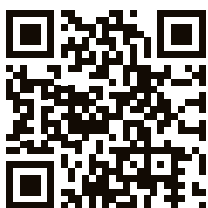
elvalasztastechnika.hu



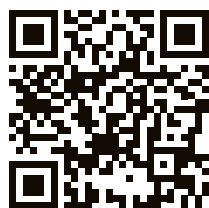
wirec.hu



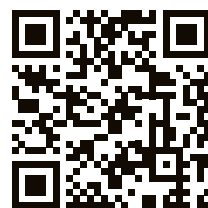
hungalimentaria.hu



qualcoduna.hu



happyfishhungary.hu



wessling.hu

**WESSLING
Hungary Kft.**

1045 Budapest,
Anonymus u. 6.
+36 1 872 36 00

info@wessling.hu



A kép illusztráció / Picture is for illustration only

Kovácsné Madar Ágota¹, Takácsné Hájos Mária²

Érkezett: 2020. január – Elfogadva: 2020. március

Különböző zöldségfajokból előállított mikrozöldségek (microgreen-ek) értékelése

Kulcsszavak: mikrozöldség (microgreen), biomassza tömeg, C-vitamin, ionarány

1. ÖSSZEFOGLALÁS

A világ népességének növekedésével fokozott figyelmet kell fordítani olyan élelmiszerek előállítására, amelyek megfelelő tápértéket nyújtanak. Ilyen élelmiszereknek tekinthetők a manapság egyre népszerűbb microgreen-ek. A microgreen kategóriába tartozó zöldségnövények 7-14 napon belül válnak fogyaszthatóvá, amikor a sziklevelek teljesen kifejlődnek, és megjelennek az első valódi levelek. A kifejlett növényekhez képest, a microgreen-eknek jóval nagyobb a táplálkozási értékük, jelentős mennyiségű vitamint- (asz-korbinsav, tokoferol), ásványianyagot- és fitonutrienseket tartalmaznak. Ezen bioaktív anyagok mennyiségét nagymértékben befolyásolják a környezeti tényezők, ideértve a páratartalmat, a hőmérsékletet és a fényintenzitást.

Kísérletünkben különböző növény családba – *Brassicaceae* (mustár, retek), *Chenopodiaceae* (cékla, mángold) és *Lamiaceae* (bazsalikom) – tartozó fajokból előállított microgreen-eket $(Ca^{2+}+Na^{+})/(Mg^{2+}+K^{+})$ -ionarány, hozam, szárazanyag- és C-vitamin-tartalom alapján értékeltük.

A microgreenek 90%-os csírázásig fénytől elzárva csírákamrában szabályozott hőmérsékleten (24-25 °C) és páratartalom (65-70%) mellett fejlődtek. A csírázást követően, 2-3 nap eltelte után a csíráztatótálcákat az üvegház kísérleti terébe helyeztük. Termesztőközegként általános virágföldet alkalmaztunk, a magok minden esetben microgreen termesztésre alkalmas, bio minősítésűek voltak. Az állomány vágását a vetést követően 10 nap után végeztük, fajtól függően 3-9 cm-es növénymagasságnál.

A legnagyobb szárazanyag-tartalmat (~10%) a *Chenopodiaceae* családba tartozó fajknál mértük. A mustár kiemelkedő mennyiségű C-vitamint tartalmazott (22,66 mg/100 g). Ezen túlmenően, kedvező biomassza-tömeget állapítottunk meg a reteknel és a mustárnál (2528 g/m²; 1831 g/m²), míg a többi növényfajnál közel azonos (~500 g/m²) értéket kaptunk. A humán szervezet ion aránya 2,5 - 4,0 között változik, amelynek optimális értéke kb. 1,0. Ez az összefüggés a következő aránnyal definiálható – $(Ca^{2+}+Na^{+})/(Mg^{2+}+K^{+})$.

Az arányt az elemek előfordulásának mmol/l-ben kifejezett értékei alapján határozzák meg [27]. A zöldségfélék fogyasztása ennek az aránynak a kialakításában kiemelkedő jelentőségű, mivel az ionarányuk többnyire 1,0 alatt van. Az általunk vizsgált microgreen-eknek ilyen irányú egészségjavító hatása igazolódott, mert kb. 0,40 körüli értéket kaptunk az eltérő fajknál.

Összességében megállapítható, hogy a vizsgált paraméterekre a mustár mutatta a legkedvezőbb eredményt. A továbbiakban az angol „microgreen” kifejezés helyett magyarosan a „mikrozöldség” szóösszetételt használjuk.

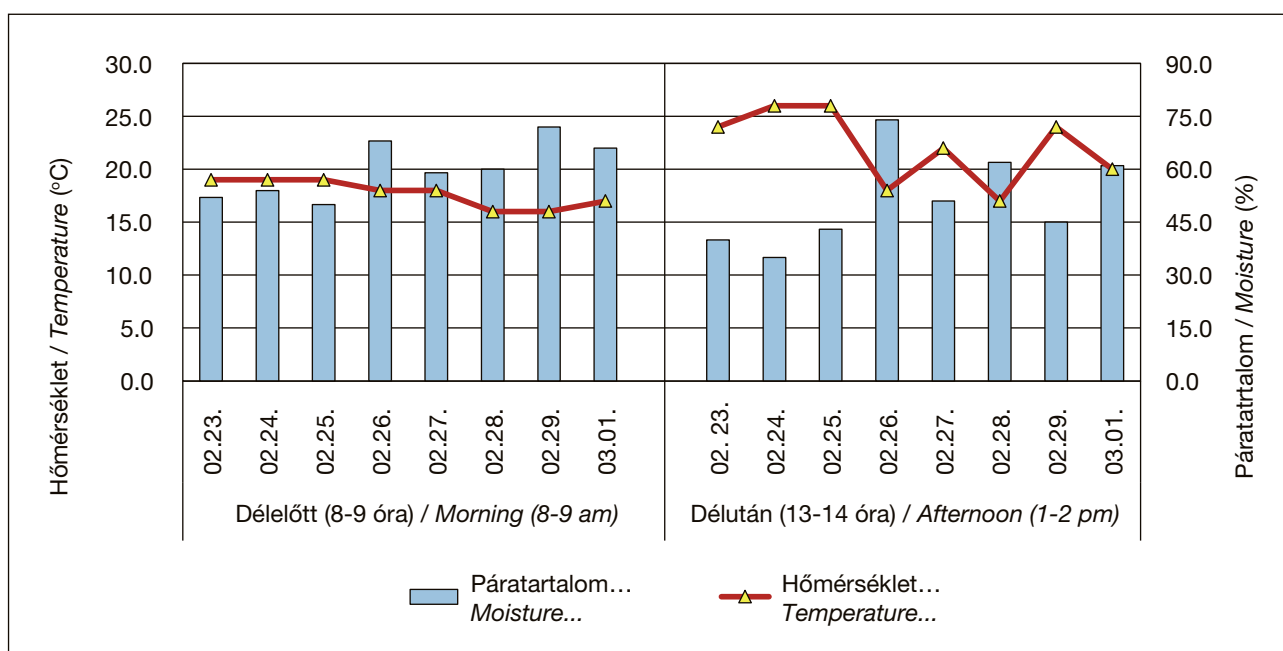
^{1,2} Debreceni Egyetem, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar, Kertészettudományi Intézet

2. Bevezetés

A világ népességének növekedésével fokozott figyelmet kell fordítani olyan élelmiszerek előállítására, amelyek megfelelő tápértéket nyújtanak és ezen felül minimális a környezeti hatásuk [1, 2]. Ilyen élelmiszerek tekinthetők a napjainkban egyre népszerűbb mikrozöldségek. Ezek a zöldségnövények csírázást követően 7-14 napon belül válnak fogyaszthatóvá, fajtól függően, amikor a sziklevek teljesen kifejlődnek, és megjelennek az első valódi levelek [3, 4, 5]. A mikrozöldségek ennél fogva alapvetően különböznek a csíráktól [6] és a baby leaf zöldségnövényektől. Ez utóbbiak 20-40 napos tenyészidő után, kifejlett valódi leveles állapotban válnak szedhetővé. Ezzel szemben a csíranövényeket, még a levelek megjelenése előtt, csak a hajtás kezdeményeket fogyasztják a maggal együtt [7]. Ahogy növekszik a fogyasztók igénye az egészséges és dobozos nyers növények világszerte egyre népszerűbbé válnak [8]. Az utóbbi időben a gasztronómia is előnyben részesíti, mivel különleges megjelenésükkel fontos szerepük van az exkluzív éttermek kínálatában. A mikrozöldségek kedvező tulajdonságai közé sorolható még a jellemző íz, amely karakteresebben jelenik meg a szikleveles állapotban [9]. Új kulináris összetevőként különböző ételek díszítésére, köretként, valamint saláta komponensek alapanyagaként használják [5]. A mikrozöldségeknek, ugyanazon növények kifejlett egyedeihez képest, jóval nagyobb a táplálkozási értékük, jelentős mennyiségű vitamint- (aszcorbinsav, tokoferol), ásványianyagot-, karotinoidot- (β -karotin, lutein/zeaxantin, violaxantin) és fitonutrienseket-tartalmaznak [4].

Az Egyesült Államokban különböző élelmiszer-minőségvizsgáló laboratóriumokban harminc, mikrozöld-

ségként előállított növényfajtának értékelték az ásványi elem tartalmát. A *Brassicaceae* családból 10 fajt értékelték makro-, és mikroelem-tartalomra (Ca, Cu, Fe, K, Na Mg, Mn, P, Zn) induktív csatolású plazma optikai emissziós spektrometriával (ICP OES). Méréseik alapján megállapították, hogy a mikrozöldségek jó forrásai úgy a makroelemeknek (K és Ca), mint a mikroelemeknek (Fe és Zn) [10]. További kísérletekben összehasonlították a mikrozöldségként előállított saláták és ugyanazon növényfajok kifejlett egyedekének ásványi elem-, és nitrát-tartalmát. Az eredmények azt mutatták, hogy a legtöbb ásványi elem (Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Se és Mo) a mikrozöldségek esetében volt jelen nagyobb mennyiségben. Mindemellett alacsonyabb nitrát-tartalommal rendelkeztek, mint a kifejlett egyedek, ezért kiváló és biztonságos ásványianyag-forrásnak tekinthetők a humán táplálkozásban [11]. Ezen bioaktív anyagok mennyiségét nagymértékben befolyásolják a környezeti tényezők, ideértve a hőmérsékletet, a páratartalmat és a fényintenzitást. Ezért a mikrozöldségek előállítási körülményei alapvetően meghatározzák a termék minőségét és a tápértékét [12]. Továbbá, a rövid tenyészidő miatt kiemelt fontosságú a lehető legkedvezőbb környezeti tényezők biztosítása [13]. Fokozott figyelmet kell fordítani a megfelelő fajok kiválasztására, az előállítás körülményeire (termesztőközeg, optimális növényűrűség, fényintenzitás, hőmérséklet, páratartalom), hogy védekezni lehessen az esetlegesen fellépő gomba- és baktérium fertőzés ellen [14]. Bár ezen lágyszárú, szikleveles növényeknél legtöbb esetben a fertőzés kialakulásának fő forrásai a magok felületén lévő kórokozók. A fertőzésveszély miatt a nem megfelelő minőségű vetőmagoknál célszerű fertőtlenítést végezni, pl. 20.000 mg/l töménységű kalcium-hipoklorit $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ oldattal [15]. Továbbá, a már említett három növényi termék kategóriában (csíra,



1. ábra. Az üvegházban mért délelőtti és délutáni hőmérséklet (°C) és páratartalom (%) alakulása
Figure 1. Evaluation of morning and afternoon temperature (°C) and humidity (%) in the greenhouse.

microgreen, baby leaf) kizárólag a csíráknál léteznek szigorú előírások az előállításra és forgalmazásra vonatkozóan. A nem megfelelő higiéniai körülmények között előállított étkezési csírák fogyasztása ugyanis nagy élelmiszerbiztonsági (mikrobiológiai) kockázatot jelent [16].

A mikroöldségek előállítása általában zárt környezetben, így üvegházban, fóliasátorban és csíráztató kamrában, természetes vagy mesterséges megvilágítás mellett történik [6, 17]. Mindemellett a zárt termesztési körülmények, korlátozhatják a rovarok és egyéb élőlények bejutását, ezáltal minimalizálva a fertőződés lehetőségét [8].

Jellemzően előállított mikroöldségek közé tartoznak a *Brassicaceae* család fajai, úgymint a káposzta, retek, karfiol, brokkoli és számos gyógy- és fűszernövény, például a mustár és a kerti zsázsa is [18]. Az ebbe a növény családba tartozó fajok esetében jól ismert, hogy gazdag forrásai a glükózinolátoknak és egyéb antioxidáns hatású fitokémiai anyagoknak, ezért fogyasztásukkal értékes, biológiailag aktív anyagok kerülhetnek az ember szervezetébe [19, 20].

3. Vizsgálati anyag és módszer

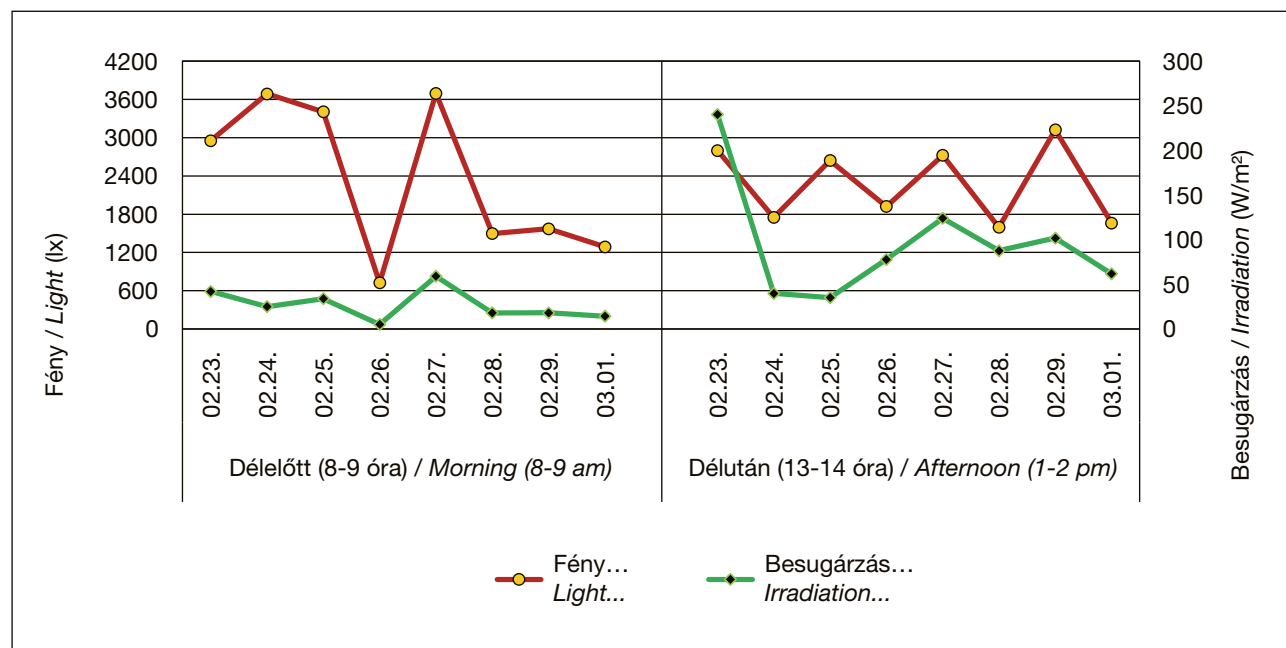
Kísérleteinket a Debreceni Egyetem AKIT DTTI Arborétum Bemutatókertjében található CSK 7,56/2018 típusú csíráztató kamrában állítottuk be. A természetes során különböző növény családba tartozó fajokat *Brassicaceae* (mustár, retek), *Chenopodiaceae* (mángold, cékla), *Lamiaceae* (bazsalikom) értékeltünk. A vetést 2020. február 20-án végeztük 58 x 29 cm méretű szaporítótálcába úgy, hogy a magokat vékony talajréteggel takartuk, majd a tálcákat azt követően a

csírákamrába helyeztük. A mikroöldségeket 90%-os csírázásig fénymentes körülmények között tartottuk, szabályozott hőmérséklet- (24-25 °C) és páratartalom (65-70%) mellett. Termesztőközegként általános virágföldet alkalmaztunk. A magok minden esetben csíranövények- és mikroöldségek neveléséhez alkalmas bio minősítésűek voltak. A 2-3 nap fénymentes időszakot követően a tálcákat a Bemutatókertben található üvegház elkülönített kísérleti terében helyeztük el. A hőmérséklet, páratartalom és besugárzási értékeket az asszimilációs periódus 2 jellemző időpontjába mértük, délelőtt (8-9 óra között) és délután (13-14 óra között), ellenőrizve az aktív fotoperiodikus szakasz alacsonyabb és magasabb hőmérsékleti intervallumait. Jól látható, hogy ebben az időszakban a hőmérséklet délelőtt $17,75 \pm 1,28$ °C, míg délután $22,13 \pm 3,48$ °C között volt (1. ábra).

A páratartalom délelőtt $60 \pm 7,8\%$, délután pedig $51 \pm 13,2\%$ között változott. A besugárzás délelőtt $27 \pm 17,3$ W/m², míg délután $96 \pm 65,5$ W/m² értékek között alakult. A fényintenzitás a reggeli órákban 2353 ± 1206 lx, míg a délutáni órákban 2277 ± 606 lx értékek között változott (2. ábra).

A növényállomány betakarítását 10 nap elteltével, 2020. március 1-én végeztük úgy, hogy a 3-9 cm magasságú növényállományt gyökér nélkül, a talajfelszín mentén vágtuk le.

Az adatok összehasonlítását varianciaanalízissel (ANOVA) végeztük. A post-hoc tesztek közül, pedig Tukey teszttel határoztuk meg az adatok közötti különbséget 5%-os ($p=0,05$) szignifikanciaszinten. Az elemzéseket az IBM SPSS szoftver (25. verzió) alkalmazásával hajtottuk végre.



2. ábra. Az üvegházban mért délelőtti és délutáni fényintenzitás (lx) és besugárzás (W/m²)
Figure 2. Morning and afternoon light intensity (lx) and irradiance (W/m²) recorded in the greenhouse

3.1. Laboratóriumi mérések

Kísérleteink célja, a különböző növénycsaládba tartozó fajok – *Brassicaceae* (mustár, retek), *Chenopodiaceae* (mángold, cékla), *Lamiaceae* (bazsalikom) – microgreenként történő előállításánál a beltartalmi paraméterek (ionarány, szárazanyag- és C-vitamin-tartalom) és a hozam értékelése.

Munkánk során a következő méréseket végeztük el:

- Betakarításkor a biomassza tömeg (g/m^2) meghatározása növényfajonként;
- Összes szárazanyag-tartalom (%) meghatározása – az MSZ-08-1783-1:1983 2. fejezet szabvány szerint;
- Aszkorbinsav-tartalom meghatározása – MSZ ISO 6557-2:1991 2. fejezet alapján határoztuk meg;
- Ásványelem-tartalom (Ca, K, Mg, Na) meghatározása ICP-AES készülékkel. A mintákat szárazhamvasztással készítettük elő az MSZ-08-1783:1983 szabvány szerint. A mérési eredményeket az ionarány számítására használtuk fel.

4. Vizsgálati eredmények

4.1. Szárazanyag-tartalom

A szárazanyag-tartalom belülről két alkotórészt különböztetünk meg, a szerves- és a szervetlen-anyagokat.

A szárazanyag-tartalom meghatározza a növények nyers fogyaszthatósági idejét, amely a mikrozöldségek szempontjából fontos tulajdonság. Az általunk értékelte minták szárazanyag-tartalma 4,78% és 10,02% között változott (**1. táblázat**). A legnagyobb értéket (~10%) a céklából és a mángoldból előállított mintákból mértük. A legkevesebb szárazanyagot (4,78%) a retek mutatta. Más kutatók eltérő körülmények között, fűtetlen fóliaházban (május és július) bazsalikomban 7,73%, retekben 7,8%, céklában, mustárban pedig 4,6 és 5,6% szárazanyag-tartalmat mértek [**4**].

4.2. C-vitamin-tartalom

Az aszkorbinsav (C-vitamin) a vízben oldódó vitaminok közé tartozik, így nem raktározódik az emberi szervezetben, ezért utánpótlásáról folyamatosan gondoskodni kell. Közismert, hogy az ajánlott napi beviteli érték több tápanyag esetében is vitatott. Az RDA (Recommended Dietary Allowance) alapján, a lakosság számára ajánlott napi C-vitamin mennyiség a felnőtt férfiak számára 90 mg/nap, míg a felnőtt nők esetében 75 mg/nap [**21**]. Az általunk értékelte zöldségfajok C-vitamin-tartalma 2,44 és 22,66 mg/100 g között változott (**2. táblázat**). Az utóbbi értéket a mustárnál mértük, ami a napi ajánlott beviteli érték 25-30%-át is fedezheti. Hidropóniás termesztési technológia mellett más kutatók mustárból 30,67 mg/100 g, retekből pedig 45,43 mg/100 g értékeket mértek [**22**].

1. táblázat. Különböző zöldségfajokból előállított mikrozöldségek szárazanyag-tartalma
Table 1. Changes in dry-matter content of various microgreen vegetables

Növényfaj Species	Szárazanyag-tartalom % Dry matter content %
Retek / Radish	4.78 ± 0.0 ¹ d
Mustár / Mustard	7.71 ± 0.15 ^{bc}
Mángold / Swiss chard	10.02 ± 1.0 ^a
Cékla / Beetroot	9.38 ± 0.48 ^{ab}
Bazsalikom / Basil	6.49 ± 0.09 ^c

Megjegyzés / Remark

Az azonos betűvel jelölt mikrozöldségek között a Tukey-teszt alapján nincs szignifikáns különbség ($P \leq 0,05$).
There is no significant difference ($P \leq 0,05$) between the microgreens marked with the same letter according to the Tukey test.

2. táblázat. Különböző zöldségfajokból előállított mikrozöldségek C-vitamin-tartalma
Table 2. Changes in vitamin C content of various microgreen vegetables

Növényfaj Species	C-vitamin-tartalom Vitamin C content (mg/100 g)
Retek / Radish	5.56 ± 0.05 ^b
Mustár / Mustard	22.66 ± 0.80 ^a
Mángold / Swiss chard	5.56 ± 0.20 ^b
Cékla / Beetroot	5.53 ± 0.52 ^b
Bazsalikom / Basil	2.44 ± 0.48 ^c

Megjegyzés / Remark

Az azonos betűvel jelölt mikrozöldségek között a Tukey-teszt alapján nincs szignifikáns különbség ($P \leq 0,05$).
There is no significant difference ($P \leq 0,05$) between the microgreens marked with the same letter according to the Tukey test.

4.3. A különböző mikrozöldségeknél talált ionarányok

A humán szervezet optimális ionarányát a következő összefüggéssel lehet definiálni: $(Ca^{2+}+Na^+)/ (Mg^{2+}+K^+) \approx 1.0$, az ásványelemek arányát mmol/l értékek alapján határozták meg. Ezen érték a humán szervezetben általában 2,5 - 4,0 között változik [27], mely ionarányt a zöldségfélék fogyasztásával kedvezően lehet befolyásolni [22].

Az általunk vizsgált mikrozöldségek ilyen irányú egészségjavító hatását igazolni tudtuk, mert a különböző zöldségfajoknál az esetek többségében ~0,40 körüli ionarányt számítottunk (3. táblázat). A legnagyobb ionarányt a bazsalikomnál kaptuk (0,62). Ezáltal igazolható, hogy a mikrozöldségek fogyasztása csökkentheti a humán szervezet ionarányát, így közelítve az optimális (1,0) értékhez.

4.4. Különböző növényfajokból előállított mikrozöldségek hozama

Mikrozöldségek előállításánál alapvetően kisebb hozammal kell számolni. A 4. táblázatban látható az egyes fajoknál mért biomassa tömege. Kísérletünkben kimagasló hozamot az alapvetően nagyobb méretű levelekkel rendelkező reteknel és mustárnál mértünk, reteknel 2528 g/m², illetve a mustárnál 1831 g/m² mennyiséget. A mángold, cékla és bazsalikom fajoknál ez az érték alacsonyabb volt. Más kutatók hidropóniás termesztésnél a mángold esetében kb. 2000 g/m², a bazsalikomnál pedig kb. 1000 g/m² hozamot értek el [24]. Murphy és munkatársai külön-

böző vetési (mag) sűrűséget alkalmaztak céklából történő mikrozöldségek előállításánál, amelyet 15 nap elteltével takarítottak be. Megállapították, hogy a nagyobb magművelés ugyan nagyobb hozamot mutatott, de az 50 g/m²-es magmennyiséghez képest a négyszerese tömegű mag elvetése csak 60%-kal növelte a négyzetméterenként betakarítható hozamot [25].

5. Vizsgálati eredmények értékelése, megvitatása, következtetések

A mikrozöldségek fiatal, gyenge, lágyszárú növények, amelyek viszonylag rövid időn belül hervadnak, ezért célszerű olyan fajokat termesztetni, amelyek kedvezőbb (kisebb) víztartalommal rendelkeznek.

Kísérletünkben főzegen történő termesztés mellett a legnagyobb víztartalmat a retekben (95,2%), míg a legkisebbet a mángold esetében (89,8%) mértük.

A kiegyensúlyozott táplálkozás szempontjából fontos a megfelelő mennyiségű C-vitamin bevitel. Mivel a C-vitamin az emberi szervezetben nem raktározódik, így az utánpótlásáról folyamatosan gondoskodni kell. A vizsgált zöldségnövény-fajok közül a mustárnál kedvező C-vitamin-tartalmat (22,66 mg/100 g) mértünk, ami az ajánlott napi beviteli mennyiség 25-30%-át is fedezheti.

A humán szervezet optimális ion arányának fenntartásában az általunk értékelt valamennyi zöldségfaj kedvezőnek bizonyult.

3. táblázat. Különböző zöldségfajokból előállított mikrozöldségek ionarányának értékei
Table 3. Evolution of ion ratios of different microgreen vegetable species

Növényfaj Species	Ionarány $(Ca^{2+}+Na^+) / (Mg^{2+} + K^+)$ Ion ratio $(Ca^{2+}+Na^+) / (Mg^{2+} + K^+)$
Retek / Radish	0.27 ± 0.02 ^c
Mustár / Mustard	0.35 ± 0.01 ^c
Mángold / Swiss chard	0.33 ± 0.01 ^c
Cékla / Beetroot	0.44±0.01 ^b
Bazsalikom / Basil	0.62 ± 0.05 ^a

Megjegyzés / Remark

Az azonos betűvel jelölt microgreenek között a Tukey-teszt alapján nincs szignifikáns különbség ($P \leq 0,05$).
There is no significant difference ($P \leq 0.05$) between the microgreens marked with the same letter according to the Tukey test.

4. táblázat. Különböző zöldségfajokból előállított microgreenek biomassa tömegének alakulása
Table 4. Evolution of yield of different microgreen vegetables

Növényfaj Species	Hozam (g/m ²) Yield (g/m ²)
Retek / Radish	2528.24
Mustár / Mustard	1831.21
Mángold / Swiss chard	484.60
Cékla / Beetroot	431.63
Bazsalikom / Basil	554.22

Az egyes fajok hozamáról általunk elért szakirodalmi forrásokban – eltérő termesztési módszerek mellett – viszonylag kevés adatot találtunk. Gazdaságossági szempontból a várhatóan elérhető hozamok ismerete fontos lenne, az aránylag nagy vetőmagszükséglet (10-40 ezer mag/m²) miatt [26].

6. Köszönetnyilvánítás



„Az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-19-3 kód-számú Új Nemzeti Kiválóság Programjának szakmai támogatásával készült.”



Látogassa meg a WESSLING Tudásközpont honlapját!



<https://wesslingtudaskozpont.hu/>



Ágota Kovácsné Madar¹, Mária Takácsné Hájos²

Received: January 2020 – Accepted: March 2020

Evaluation of various microgreen vegetables

Keywords: microgreens, biomass weight, vitamin C, ion ratio

1. SUMMARY

As the world's population grows, more attention needs to be paid to producing foods that provide adequate nutritional value. Microgreens, which are becoming more and more popular today, can be considered such foods. Vegetables in the microgreen category become edible within 7 to 14 days when the cotyledons are fully developed and the first true leaves appear. Compared to adult plants, microgreens have a much higher nutritional value, they contain significant amounts of vitamins (ascorbic acid, tocopherol), minerals and phytonutrients. The amount of these bioactive substances is greatly influenced by environmental factors, including humidity, temperature and light intensity.

In our experiment, microgreens prepared species belonging to various plant families, such as *Brassicaceae* (mustard, radish), *Chenopodiaceae* (beetroot, Swiss chard) and *Lamiaceae* (basil), were evaluated based on the $(Ca^{2+}+Na^+)/ (Mg^{2+}+K^+)$ ion ratio, yield, dry matter and vitamin C content.

Microgreens were allowed to develop up to a germination state of 90% protected from light in a germination chamber at a controlled temperature (24-25 °C) and humidity (65-70%). Following germination, after 2 to 3 days, the germination trays were placed in the experimental space of the greenhouse. General potting soil was used as the growing medium, and the seeds were of bio grade, suitable for microgreen cultivation in all cases. The crop was harvested 10 days after sowing, when plant height was 3 to 9 cm, depending on the species.

The highest dry matter content (~10%) was measured in species belonging to the family *Chenopodiaceae*. Mustard contained an outstanding amount of vitamin C (22.66 mg/100 g). In addition, favorable biomass weights were found in the case of radish and mustard (2528 g/m²; 1831 g/m²), while the values for the other species were almost the same (~500 g/m²).

The ion ratio of the human body varies between 2.5 and 4.0, with an optimal value of approximately 1.0. This relationship can be defined as the following ratio: $(Ca^{2+}+Na^+)/ (Mg^{2+}+K^+)$.

The ratio is determined from the occurrence values of the elements expressed in mmol/l [27]. The consumption of vegetables is of paramount importance in establishing this ratio, as their ion ratio is mostly below 1.0. This health-improving effect was proven in the case of the microgreens examined by us, as a value of about 0.40 was obtained for the different species.

Overall, it can be stated that mustard showed the most favorable results for the parameters examined.

^{1,2} University of Debrecen, Faculty of Agricultural and Food Sciences and Environmental Management, Institute of Horticulture

2. Introduction

As the world's population grows, more attention needs to be paid to producing foods that provide adequate nutritional value and, in addition, have minimal environmental impact [1, 2]. Microgreens, which are becoming more and more popular today, can be considered such foods. These vegetable plants become edible within 7 to 14 days following germination, depending on the species, when the cotyledons are fully developed and the first true leaves appear [3, 4, 5]. Microgreens are therefore fundamentally different from sprouts [6] and baby leaf vegetable plants. The latter can be picked after a growing period of 20 to 40 days, in a mature, true leaf state. In contrast, sprouts are consumed before the emergence of the leaves, only the young shoots are consumed together with the seeds [7]. As consumer demand for healthy and so-called 'convenience foods' grows, bagged and canned raw plants are becoming increasingly popular worldwide [8]. Recently, gastronomy developed a preference for them as well, as they play an important role in the offerings of exclusive restaurants with their special appearance. Their characteristic taste, which appears in a more pronounced way in the cotyledon state, can also be considered one of the favorable properties of microgreens [9]. They are used as new culinary ingredients to decorate various dishes, as side dishes or as raw materials for salad components [5]. Compared to the adult specimens of the same plants, microgreens have a much higher nutritional value, and they contain significant amounts of vitamins (ascorbic acid, tocopherol), minerals, carotenoids (β -carotene, lutein/zeaxanthin, violaxanthin) and phytonutrients [4].

In the United States, the mineral content of thirty plant varieties produced as microgreens was evaluated in various food quality testing laboratories.

Ten species of the *Brassicaceae* family were evaluated for macro- and microelement content (Ca, Cu, Fe, K, Na Mg, Mn, P, Zn) using inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES). Based on their measurements, it was found that microgreens are good sources of both macroelements (K and Ca) microelements (Fe and Zn) [10]. In further experiments, the mineral and nitrate contents of lettuces produced as microgreens and mature specimens of the same plant species were compared. The results showed that most of the minerals (Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Se and Mo) were present in higher amounts in the microgreens. Additionally, they had a lower nitrate content than the adult specimens, and could therefore be considered an excellent and safe source of minerals in human nutrition [11]. The amount of these bioactive substances is greatly influenced by environmental factors, including temperature, humidity and light intensity. For this reason, the production conditions of microgreens fundamentally determine the quality and nutritional value of the product [12]. Furthermore, due to the short growing period, en-

suring the best possible environmental conditions is of paramount importance [13]. Increased attention should be paid to the selection of appropriate species and production conditions (growing medium, optimal plant density, light intensity, temperature, humidity), in order to be able to protect them against possible fungal or bacterial infections [14]. Although in the case of these herbaceous, cotyledonous plants, the main sources of infection most often are pathogens on the surface of the seeds. Due to the risk of infection, it is advisable to disinfect seeds of poor quality, e.g., using a 20,000 mg/l calcium hypochlorite $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ solution [15]. Furthermore, in the above-mentioned three plant product categories (sprout, microgreen, baby leaf), there are strict production and marketing standards only for sprouts. The reason for this is that the consumption of food sprouts produced under inadequate hygiene conditions poses a high food safety (microbiological) risk [16].

Microgreens are usually produced in a closed environment, such as a greenhouse, foil tent or germination chamber, under natural or artificial lighting [6, 17]. Closed growing environments can also limit the access of insects and other organisms, thereby minimizing the possibility of infection [8].

Microgreens typically produced include species of the *Brassicaceae* family, such as cabbage, radish, cauliflower, broccoli, and many herbs and spices, such as mustard and garden cress [18]. For species belonging to this plant family, it is well known that they are rich sources of glucosinolates and other phytochemicals with antioxidant effects, so that by consuming them, valuable, biologically active substances can enter the human body [19, 20].

3. Materials and methods

Our experiments were set up in the CSK 7,56/2018 germination chamber found in the demonstration garden of the University of Debrecen AKIT DTTI Arboretum. During the growing, species belonging to the different plant families of *Brassicaceae* (mustard, radish), *Chenopodiaceae* (Swiss chard, beet-root) and *Lamiaceae* (basil) were evaluated. Sowing was performed on February 20, 2020, in 58 x 29 cm propagation trays by covering the seeds with a thin layer of soil, and then placing the trays in the germination chamber. The microgreens were kept under light-free conditions with controlled temperature (24-25 °C) and humidity (65-70%) until germination was 90% complete. General potting soil was used as the growing medium. In all cases, the seeds were organically certified, suitable for growing seedlings and microgreens. After a light-free period of 2 to 3 days, the trays were placed in the separate experimental space of the greenhouse on the demonstration garden. Temperature, humidity and irradiance values were measured at 2 typical times of the assimilation period, in the morning (between 8 and 9 a.m.) and in

the afternoon (between 1 and 2 p.m.), checking the lower and higher temperature intervals of the active photoperiodic section. It can be clearly seen that during this period the temperature was in the range of 17.75 ± 1.28 °C, while in the afternoon it was in the range of 22.13 ± 3.48 °C (**Figure 1**).

Humidity varied between $60 \pm 7.8\%$ in the morning and $51 \pm 13.2\%$ in the afternoon. Irradiance was in the range of 27 ± 17.3 W/m² in the morning and in the range of 96 ± 65.5 W/m² in the afternoon. Light intensity varied between 2353 ± 1206 lx in the morning and 2277 ± 606 lx in the afternoon (**Figure 2**).

Harvesting of the crop was carried out after 10 days, on March 1, 2020, by cutting the 3 to 9 cm tall plants without the roots along the soil surface.

Data were compared using the analysis of variance (ANOVA) method. Among the post-hoc tests, the difference between the data at a significance level of 5% ($p=0,05$) was determined by Tukey's test. Analyses were performed using the IBM SPSS software (version 25).

3.1. Laboratory measurements

The aim of our experiments was to evaluate the nutritional parameters (ion ratio, dry matter and vitamin C content) and yield of species belonging to different plant families (*Brassicaceae* - mustard, radish), *Che nopodiaceae* – Swiss chard, beetroot, *Lamiaceae* - basil) when produced as microgreens.

In the course of our work, the following measurements were performed:

- Determination of biomass weight (g/m²) at harvest for each species;
- Determination of total dry matter content (%) – according to Chapter 2 of standard MSZ-08-1783-1:1983;
- Determination of ascorbic acid content – according to Chapter 2 of standard MSZ ISO 6557-2:1991;
- Determination of mineral content (Ca, K, Mg, Na) with ICP-AES. Sample preparation was carried out by dry ashing according to standard MSZ-08-1783:1983. Measurement results were used to calculate the ion ratio.

4. Analytical results

4.1. Dry matter content

Within the dry matter content, two components are distinguished, organic and inorganic substances. The dry matter content determines the raw shelf life of plants, which is an important property for microgreens. The dry matter content of the samples evaluated by us ranged from 4.78% to 10.02% (**Table 1**).

The highest values (~10%) were measured in samples prepared from beetroot and Swiss chard. The lowest dry matter (4.78%) was found in radish. Other researchers have measured dry matter contents of 7.73% in basil, 7.8% in radish, and 4.6 and 5.6% in beetroot and mustard, respectively, under different conditions in unheated foil tents (May and July) [4].

4.2. Vitamin C content

Ascorbic acid (vitamin C) is one of the water-soluble vitamins, so it is not stored in the human body, therefore, it must be constantly replenished. It is a well known fact that the recommended daily intake values are controversial for several nutrients. According to the RDA (Recommended Dietary Allowance), the recommended daily intake of vitamin C for the general population is 90 mg/day for adult men and 75 mg/day for adult women [21]. The vitamin C content of the vegetable species evaluated by us ranged from 2.44 to 22.66 mg/100 g (**Table 2**). The latter value was measured in mustard, and it can cover 25 to 30% of the recommended daily intake. When using hydroponic cultivation technology, other researchers have measured values of 30.67 mg/100 g in mustard and 45.43 mg/100 g in radish [22].

4.3. Ion ratios of the different microgreens

The optimal ion ratio of the human body can be defined by the following relation: $(Ca^{2+}+Na^+)/Mg^{2+}+K^+) \approx 1.0$, where the ratio of mineral elements is expressed in mmol/l values. In the human body, this value usually varies between 2.5 and 4.0 [27], and this ion ration can be favorably influenced by the consumption of vegetables [22].

Such a health-improving effect of the microgreens examined by us could be proven, as in most cases the calculated ion ratios were around 0.40 for the different vegetable species (**Table 3**). The highest ion ratio was obtained for basil (0.62). Thus, it can be proven that the consumption of microgreens can lower the ion ratio of the human body, making it approach the optimal value (1.0).

4.4. Yields of microgreens produced from different plant species

When producing microgreens, typically lower yields are to be expected. **Table 4** shows the biomass weight measured for each species. In our experiment, outstanding yields were measured for radishes and mustard with typically larger leaves, specifically 2,528 g/m² for radishes and 1,831 g/m² for mustard. This value was lower for the Swiss chard, beetroot and basil species. Other researchers achieved yields of ca. 2,000 g/m² for Swiss chard and ca. 1,000 g/m² for basil using hydroponic cultivation [24]. Murphy et al. used different sowing (seed) densities in the production of microgreens from beetroot, which was harvested after 15 days. It was found that although

higher seed densities resulted in higher yields, but a fourfold increase in the initial seed amount of 50 g/m² resulted in a yield increase per square meter of only 60% [25].

5. Evaluation and discussion of the results, conclusions

Microgreens are young, tender herbaceous plants that wither in a relatively short time, so it is advisable to grow species that have a more favorable (lower) water content.

In our experiment, when grown on peat, the highest water content was measured in radish (95.2%), while the lowest was measured in Swiss chard (89.8%).

For a balanced diet, it is important to have the right amount of vitamin C. As vitamin C is not stored in the human body, it must be constantly replenished. Of the vegetable species examined, a favorable vitamin C content was measured in the case of mustard (22.66 mg/100 g), which can cover 25 to 30% of the recommended daily intake.

All the vegetable species evaluated by us proved to be favorable in maintaining the optimal ion ratio of the human body.

In the literature available to us, relatively little data was found on the yield of the different species, while using different cultivation methods. From an economic point of view, it would be important to know the yields that can be expected, because of the relatively high seed demand (10-40 thousand seeds/m²) [26].

6. Acknowledgment



„Completed with the professional support of the New National Excellence Program of the Ministry of Innovation and Technology, code number ÚNKP-19-3.”

7. References

- [1] Weber, F. C. (2017): Microgreen Farming and Nutrition: A Discovery-Based Laboratory Module to Cultivate Biological and Information Literacy in Undergraduates. *The American Biology Teacher* 79 (5): 375-386
- [2] McClung, C. R. (2014): Making Hunger Yield. *Plant Science, AAAS*. 344 (6185): 699-700.
- [3] Bhatt, P., Sharma, S. (2018): Microgreens: A Nutrient Rich Crop that can Diversify Food System. *International Journal of Pure & Applied Bioscience*. 6 (2): 182-186.
- [4] Xiao, Z., Lester, G.E., Luo, Y., Wang, Q. (2012): Assessment of Vitamin and Carotenoid Concentrations of Emerging Food Products: Edible Microgreens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60 (31): 7644-7651.
- [5] Nivedha, V., Lakshmy, P. S. (2018): Comparative study of microgreens with mature greens incorporated ready-to-eat chutney powders. *International Journal of Food Science and Nutrition*. 3 (6): 171-175
- [6] Kaiser, C., M. Ernst. (2018): *Microgreens*. CCD-CP-104. Lexington, KY: Center for Crop Diversification, University of Kentucky College of Agriculture, Food and Environment.
- [7] Di Gioia, F., Renna, M., & Santamaria, P. (2017): Sprouts, Microgreens and “Baby leaf” Vegetables. In *Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables*. Springer, Boston, MA. 403-432.
- [8] Xiao, Z., Nou, X., Luo, Y., Wang, Q. (2014): Comparison of the growth of Escherichia coli O157: H7 and O104: H4 during sprouting and microgreen production from contaminated radish seeds. *Food Microbiology*, 44, 60-63.
- [9] Takácsné Hájos M., Kovácsné Madar Á. (2020): Változó fogyasztási szokások – mikrozöldségek. *Agrofórum Iránymutató a mezőgazdaságban*. 1 (31): 52-54.
- [10] Xiao, Z., Codling, E. E., Luo, Y., Nou, X., Lester, G. E., & Wang, Q. (2016): Microgreens of Brassicaceae: Mineral composition and content of 30 varieties. *Journal of Food Composition and Analysis*, 49: 87-93.

- [11] Pinto, E., Almeida, A. A., Aguiar, A. A., Ferreira, I. M. P. L. V. O. (2015): Comparison between the mineral profile and nitrate content of microgreens and mature lettuces. *Journal of Food Composition and Analysis*, 37, 38–43.
- [12] Nolan, D. A. (2018): Effects of Seed Density and Other Factors on the Yield of Microgreens Grown Hydroponically on Burlap. Virginia Tech. 39.
- [13] Delian, E., Chira, A., Badulescu L., Chira, L. (2015): Insights into microgreens physiology. *Scientific Papers. Series B, Horticulture*. LIX, 447-454.
- [14] Kyriacou, M. C., Roupheal, Y., Di Gioia, F., Kyrtziz, A., Serio, F., Renna, M., De Pascale, S., Santamaria, P. (2016): Micro-scale vegetable production and the rise of microgreens. *Trends in Food Science & Technology*. 57. 103–115.
- [15] National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods (1999): Microbiological safety evaluations and recommendations on sprouted seeds. *International Journal of Food Microbiology* 52 (3): 123-153
- [16] Treadwell, D. D., Hochmuth, R., Landrum, L., Laughlin, W. (2010): Microgreens: A New Specialty Crop. University of Florida IFAS Extension, HS1164. 1-3.
- [17] Stoleru, T., Ioniță, A., Zamfirache, M. M. (2016): Microgreens - a new food product with great expectations. *Romanian journal of biology, Plant Biology*. 61 (1-2): 7-16.
- [18] Paradiso, V. M., Castellino, M., Renna, M., Gattullo, C. E., Calasso, M., Terzano, R., Allegretta, I., Leoni, B., Caponio, F., Santamaria, P. (2018): Nutritional characterization and shelf-life of packaged microgreens. *Food & Function*. 9 (11): 5629–5640.
- [19] Kopsell, D. A., Sams, C. E. (2013): Increases in Shoot Tissue Pigments, Glucosinolates, and Mineral Elements in Sprouting Broccoli after Exposure to Short-duration Blue Light from Light Emitting Diodes. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 138. (1): 31-37.
- [20] Samuolienė, G., Brazaitytė, A., Viršilė, A., Miliauskienė, J., Vaštakaitė-Kairienė, V., Duchovskis, P. (2019): Nutrient Levels in Brassicaceae Microgreens Increase Under Tailored Light-Emitting Diode Spectra. *Frontiers in Plant Science*, 10. 1475
- [21] Institute of Medicine (2000): Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids. Washington, DC: The National Academies. 528.
- [22] De la Fuente, B., López-García, G., Mañez, V., Alegría, A., Barberá, R., Cilla, A. (2019): Evaluation of the Bioaccessibility of Antioxidant Bioactive Compounds and Minerals of Four Genotypes of Brassicaceae Microgreens. *Foods*. 8 (7): 250.
- [23] Takácsné Hájos M., Kiss A. S., Kastori, R., Ravel, J., Stefanovits-Bányai É., Sekulic, P. (2005): Evolution of protein and mineral element contents in green pea varieties as affected by Mg-sulphate leaf fertilisation. *TSF Tudományos Közlemények*. 5 (2): 59-71.
- [24] Bulgari, R., Baldi, A., Ferrante, A., Lenzi, A. (2016): Yield and quality of basil, Swiss chard, and rocket microgreens grown in a hydroponic system. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*. 45 (2): 119–129.
- [25] Murphy, C. J., Llorca, K. F., Pill, W. G. (2010): Factors Affecting the Growth of Microgreen Table Beet. *International Journal of Vegetable Science*, 16 (3): 253–266.
- [26] Di Gioia, F., Santamaria, P. (2015): Microgreens. Bari: Eco-logica editore 116.
- [27] Balla Á., Kiss, A. S. (1996): Magnézium a biológiában. Magnézium a gyermekgyógyászatban. *Pro-Print Kiadó, Csikszereda* 449 p.

Nemzeti szabványosítási hírek

A következő felsorolásban szereplő szabványok megvásárolhatók vagy megrendelhetők az MSZT Szabványboltban (1082 Budapest VIII., Horváth Mihály tér 1., telefon: 456-6893, telefax: 456-6841, e-mail: kiado@mszt.hu; levélcím: Budapest 9., Pf. 24, 1450), illetve elektronikus formában beszerezhetők a www.mszt.hu/webaruhaz címen.

A nemzetközi/európai szabványokat bevezetjük magyar nyelven, valamint magyar nyelvű címdallal és angol nyelvű tartalommal. A magyar nyelven bevezetett nemzetközi/európai szabványok esetén külön feltüntetjük a magyar nyelvű hozzáférést.

2020. szeptember – 2020. november hónapban bevezetett szabványok:

07.100.20 Víz mikrobiológiája

MSZ EN ISO 11133:2014/A2:2020 Élelmiszer, takarmány és víz mikrobiológiája. A tápközegek előkészítése, előállítása, tárolása és teljesítményvizsgálata. 2. módosítás (ISO 11133:2014/Amd 2:2020) – Az MSZ EN ISO 11133:2015 és az MSZ EN ISO 11133:2019 EV módosítása –

07.100.30 Élelmiszer-mikrobiológia

MSZ EN ISO 6887-5:2020 Az élelmiszerlánc mikrobiológiája. A vizsgálati minták, az alapszuspenzió és a decimális hígítások elkészítése mikrobiológiai vizsgálathoz. 5. rész: A tej és tejtermékek előkészítésének specifikus szabályai (ISO 6887-5:2020) – Az MSZ EN ISO 6887-5:2010 helyett –

MSZ EN ISO 16654:2001/A1:2017 Élelmiszerek és takarmányok mikrobiológiája. Horizontális módszer az *Escherichia coli* O157 kimutatására. 1. módosítás: B melléklet: A laboratóriumi körvizsgálatok eredményei (ISO 16654:2001/Amd 1:2017)

13.060 Vízminőség

MSZ EN ISO 5667-6:2016/A11:2020 Vízminőség. Mintavétel. 6. rész: Útmutató a folyók és patakok mintavételéhez (ISO 5667-6:2014) – Az MSZ EN ISO 5667-6:2017 módosítása –

MSZ EN ISO 12010:2019 Vízminőség. A rövid láncú poliklórozott alkánok (SCCP-k) meghatározása víz-

ben. Gázkromatográfiás-tömegspektrometriás (GC-MS) és negatív kémiai ionizációs (NCI-) módszer (ISO 12010:2019)

67 Élelmiszeripar

67.050 Élelmiszertermékek vizsgálatának és elemzésének általános módszerei

MSZ EN ISO 20647:2020 Csecsemőtápszerek és felnőtt-tápszerek. Az összes jód meghatározása. Induktív csatolású plazma-tömegspektrometria (ICP-MS) (ISO 20647:2015)

67.060 Gabonafélék, hüvelyesek és a belőlük származó termékek

MSZ EN ISO 24333:2010 Gabonafélék és gabonatermékek. Mintavétel (ISO 24333:2009)

67.100. Tej és tejtermékek

MSZ EN ISO 15151:2020 Tej, tejtermékek, csecsemőtápszerek és felnőtt-tápszerek. Ásványi anyagok és nyomelemek meghatározása. Induktív csatolású plazma atomemissziós spektrometriás (ICP-AES) módszer (ISO 15151:2018)

MSZ EN ISO 21424:2020 Tej, tejtermékek, csecsemőtápszerek és felnőtt-tápszerek. Ásványi anyagok és nyomelemek meghatározása. Induktív csatolású plazma-tömegspektrometriás (ICP-MS) módszer (ISO 21424:2018)

67.140 Tea. Kávé. Kakaó

MSZ ISO 20481:2020 Kávé és kávétermékek. Koffeintartalom meghatározása nagy hatékonyságú folyadékkromatográfiával (HPLC). Referencia-módszer

MSZ EN ISO 34101-1:2020 Fenntartható és nyomon követhető kakaóbab-előállítás. 1. rész: A fenntartható kakaóbab-előállítás irányítási rendszereire vonatkozó követelmények (ISO 34101-1:2019)

MSZ EN ISO 34101-2:2020 Fenntartható és nyomon követhető kakaóbab-előállítás. 2. rész: A (gazdasági, társadalmi és környezeti szempontokkal kapcsolatos) teljesítmény követelményei (ISO 34101-2:2019)

¹ Magyar Szabványügyi Testület (MSZT)

¹ Hungarian Standards Institution

2020. szeptember – 2020. november hónapban helyesbített szabványok:

07.100.30 Élelmiszer-mikrobiológia

MSZ EN ISO 7932:2004/A1:2020 Élelmiszerek és takarmányok mikrobiológiája. Horizontális módszer a feltételezett *Bacillus cereus* megszámlálására. Telepszámlálós módszer 30 °C-on. 1. módosítás: Kiegészítés választható vizsgálatokkal (ISO 7932:2004/Amd 1:2020, 2020. augusztusi helyesbített változat)

Review of national standardization

The following Hungarian standards are commercially available at MSZT (Hungarian Standards Institution, H-1082 Budapest, Horváth Mihály tér 1., phone: +36 1 456 6893, fax: +36 1 456 6841, e-mail: kiado@mszt.hu, postal address: H-1450 Budapest 9., Pf. 24) or via website: www.mszt.hu/webaruhaz.

Published national standards from September 2020 to November 2020

07.100.20 Water microbiology

Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media. Amendment 2 (ISO 11133:2014/Amd 2:2020) – which is amendment of the MSZ EN ISO 11133:2015 and the MSZ EN ISO 11133:2019 EV –

07.100.30 Food microbiology

MSZ EN ISO 6887-5:2020 Microbiology of the food chain. Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination. Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products (ISO 6887-5:2020) – which has withdrawn the MSZ EN ISO 6887-5:2010 –

MSZ EN ISO 16654:2001/A1:2017 Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157. Amendment 1: Annex B: Result of interlaboratory studies (ISO 16654:2001/Amd 1:2017)

13.060 Water quality

MSZ EN ISO 5667-6:2016/A11:2020 Water quality. Sampling. Part 6: Guidance on sampling of rivers and streams (ISO 5667-6:2014) – which is amendment of the MSZ EN ISO 5667-6:2017 –

MSZ EN ISO 12010:2019 Water quality. Determination of short-chain polychlorinated alkanes (SCCP) in water. Method using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and negative-ion chemical ionization (NCI) (ISO 12010:2019)

67 Food technology

67.050 General methods of tests and analysis for food products

MSZ EN ISO 20647:2020 Infant formula and adult nutritionals. Determination of total iodine. Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) (ISO 20647:2015)

67.060 Cereals, pulses and derived products

MSZ EN ISO 24333:2010 Cereals and cereal products. Sampling (ISO 24333:2009)

67.100. Milk and milk products

MSZ EN ISO 15151:2020 Milk, milk products, infant formula and adult nutritionals. Determination of minerals and trace elements. Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES) method (ISO 15151:2018)

MSZ EN ISO 21424:2020 Milk, milk products, infant formula and adult nutritionals. Determination of minerals and trace elements. Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) method (ISO 21424:2018)

67.140 Tea. Coffee. Cocoa

MSZ ISO 20481:2020 Coffee and coffee products. Determination of the caffeine content using high performance liquid chromatography (HPLC). Reference method

MSZ EN ISO 34101-1:2020 Sustainable and traceable cocoa. Part 1: Requirements for cocoa sustainability management systems (ISO 34101-1:2019)

MSZ EN ISO 34101-2:2020 Sustainable and traceable cocoa. Part 2: Requirements for performance (related to economic, social and environmental aspects) (ISO 34101-2:2019)

Corrected national standards from September 2020 to November 2020

07.100.30 Food microbiology

MSZ EN ISO 7932:2004/A1:2020 Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of presumptive *Bacillus cereus*. Colony-count technique at 30 degrees C. Amendment 1: Inclusion of optional tests (ISO 7932:2004/Amd 1:2020, Corrected version 2020-08)

Prof. Dr. Csapó János egyetemi tanárt Életfa díj bronz fokozatával tüntették ki



Az Élelmiszervizsgálati Közlemények c. tudományos szakfolyóirat Szerkesztőbizottságának tagja, Prof. Dr. Csapó Jánost az 1956. évi Forradalom és Szabadságharc 64. évfordulóján Dr. Nagy István agrárminiszter Prof. Dr. Horn Péter akadémikus, rector emeritus ajánlása alapján az Életfa Emlékplakett bronz fokozatával tüntette ki.

Horn Péter akadémikus ajánlásában kiemelte, hogy Csapó János okleveles vegyész szakmai ismereteit a Kaposvári Egyetemen az állattenyésztés tudományával egészítette ki. 1996-ban egyetemi tanári kinevezést kapott, több ciklusban a Kémiai Intézet igazgatója, a Biokémiai és Élelmiszerkémiai Tanszék vezetője volt. Kaposvári munkája mellett 2003-tól a debreceni Egyetem Agrártudományi Centrumának meghívott professzora, 2005-től pedig a Sapientia Erdélyi Magyar Tudományegyetem (EMTE) Csíkszeredai Karán is óraadó tanár. 2014-től 2020. júliusáig nyugállományba vonulásáig a Debreceni Egyetem főállású egyetemi tanára. A Sapientia EMTE, Csíkszeredai Kar 2020. júliusában Professor emeritus címmel tüntette ki.

Szakmai tevékenységében központi szerepet játszott az állattenyésztéssel, takarmányozással és az élelmiszerkémiával kapcsolatos kutatás, és az ott szerzett ismeretek átadása az egyetemek tanulóifjúságának. Kutatásai során új törvényszerűségeket fedezett fel háziállataink kolosztrum- és tej-összetételének vizsgálata során. Munkássága alapján 1995-ben elnyerte az MTA doktora címet. Példaértékű közéleti tevékenysége, több, területi akadémiai bizottságban

való aktív munkája elismeréséül számos kitüntetésben részesült. Többek között Somogy megye Önkormányzata Alkotói Díjának, a Tudományos Életért Közalapítvány aranygyűrűjének, a Széchenyi Professzori Ösztöndíjnak, a Szent-Györgyi Albert Díjnak, Somogy megyében a Területi Prima Primiissima díjnak, illetve a Sapientia kiváló oktatója címnek is tulajdonosa. Közéleti tevékenységében különleges helyet foglal el a futball, így Somogy Labdarúgó Játékvezetőiért Alapítványnak tagja.

Jómagam első ízben, a 80-as években az aminosavak elválasztástechnikai módszerekkel végzett analitikájának magasfokú művelőjeként ismertem meg Professzor Urat. Horn Péter ajánlásából idézve: „... Számottevő eredményeket ért el ezen kívül az archeometria területén, ahol egy olyan kormeghatározási módszert dolgozott ki az aminosavak racemizációja alapján, amely az aminosavak többségére nézve új...”, más kutatók által nem alkalmazott elven lehetőséget adott különböző fossziliákból származó leletek korának meghatározására.

Szerkesztőbizottságunk, és az Élelmiszervizsgálati Közlemények Kiadója, a WESSLING Nonprofit Kft. nevében kitüntetéséhez szeretettel gratulálunk, jó egészséget, további sikereket kívánunk Csapó János professzor úrnak,

Dr. Szigeti Tamás János
főszerkesztő

Prof. Dr. János Csapó, professor, was awarded the bronze degree of the Tree of Life Award

On the event of 64th anniversary of the Hungarian 1956 Revolution and War of Independence, Prof. Dr. János Csapó, a member of the Editorial Board of *Journal of Food Investigation* scientific journal, was awarded the bronze grade of the Tree of Life Memorial Plaque by Dr. István Nagy Hungarian ministry of agriculture.

In his recommendation, academician Péter Horn emphasized that János Csapó had supplemented his professional knowledge

as a chemist with the science of animal husbandry at the

University of Kaposvár

city. In 1996, he was

appointed an uni-

versity professor,

and for several cy-

cles he became

the director of

the Institute of

Chemistry and

the head of the

Department

of Biochemis-

try and Food

Chemistry. In

addition to his

work in Kapos-

vár city, he has

been an invited

professor to the

Agricultural Science

Center of the Univer-

sity of Debrecen city since

2003, and a lecturer at the

Faculty of Miercurea Ciuc of Sapi-

entia Hungarian University of Scientific

of Transylvania (HUST) since 2005. From 2014 until

his retirement in July 2020, he worked a full-time uni-

versity professor at the University of Debrecen city.

He was awarded the title of Professor Emeritus by

Sapientia HUST, Faculty of Miercurea Ciuc in July

2020.

Research on animal husbandry, feed and food

chemistry, and the transfer of knowledge gained

there to the student youth of universities, played a

central role in his professional activity. In the course

of his research, he discovered new correlations in

the study of the colostrum and milk composition of

farm animals. Based on his work, he was awarded

the title of Doctor of the Hungarian Academy of Sci-

ences in 1995. He has received numerous awards in

recognition of his exemplary public life and his ac-

tive work in several regional academic committees.

Among other professional recognitions, he is the

owner of the Creative Award of the Somogy County

Municipality, the gold ring of the Public Foundation

for Scientific Life, the Széchenyi Professor Scholar-

ship, the Albert Szent-Györgyi Award, the Territorial

Prima Primissima Award in Somogy County, and

the title of Sapientia Excellent Teacher.

Football occupies a special place

in his public activities, while he

is a member of the Somogy

Football Referees Foun-

dation.

For the first time, in

the 80s I met with

Professor Csapó

as a high-level

cultivator of

amino acid

analysis us-

ing several

separation

techniques.

Quoting from

Peter Horn's

recommenda-

tion, "... He has

also achieved sig-

nificant results in the

field of archeometry,

where he has devel-

oped an age-determi-

nation method based on racemiza-

tion of amino acids that was a new

approach in the case of most amino

acids...", which has not been applied by other re-

searchers to determine the age of fossil archaeological

finds.

On behalf of our Editorial Board and the publisher of

Food Journal of Food Investigations, the WESSLING

Nonprofit Kft., we congratulate for Professor Csapó

and wish successes, health and happiness in his fur-

ther life.



Dr. Tamás János Szigeti
editor-in-chief

Dr. Rapi Sándor laboratórium vezető¹, † **Dr. habil. Forgó Péter** fejlesztési mérnök¹,
Dr. Barta Zsolt QM és HSE igazgató¹

A Viresol Kft. minőségellenőrző- és kutatólaboratórium ismertetése

Európa egyik legmodernebb búzafeldolgozó üzemében a magas színvonalú gyártási technológia és a késztermékek értékesítésekor a megrendelők részéről elvárt magas szintű minőség kiemelkedő színvonalú vizsgáló laboratóriumi háttérrel követel meg. A fenti követelmények figyelembevételével alakították ki a minőségellenőrző- és kutató laboratóriumot, amely 2019. év januárjában kezdte meg működését. A laboratórium a termelési folyamatokhoz kapcsolódó alapanyag-, gyártásközi- és késztermékek minőségellenőrzését végzi napi rendszerességgel. A laboratórium működése folyamatos munkarend szerint történik. A laboratórium személyzetét középfokú, felsőfokú és tudományos fokozattal rendelkező, szakirányú végzettségű munkatársak alkotják. A laboratóriumi vizsgálati eredmények rögzítése SAP vállalatirányítási rendszerben történik, amely a teljeskörű visszakövethetőséget biztosítja a termelési folyamat során.

A laboratórium egyik legfontosabb feladata a beérkező alapanyagok tételes vizsgálata, amelyet egy különálló egységben, a mintavételező laboratóriumban végeznek. A mintavételező laboratóriumban történik a beérkező búza alapanyag bevételezést megelőző tételes vizsgálata, amely mikotoxinok (aflatoxin, ochratoxin-A, deoxinivalenol, zearalenon, T2/HT2) mennyiségi meghatározását, fizikai jellemzők (hektolitertömeg, keverékesség, idegenanyag-tartalom, rovarkárttevő-vizsgálat, sérült/törött szemtartalom) és alapvető kémiai és beltartalmi paraméterek (nedvességtartalom, nyersfehérje-tartalom, nedvessíkértartalom) meghatározását jelenti. A mikotoxinok mennyiségi meghatározása Neogen Reveal Q+ max KIT rendszer alkalmazásával történik a GIFSA/AOAC előírásoknak megfelelően. A fizikai vizsgálatok az MSZ 6383:2017 szabványnak megfelelő módszerek szerint történnek, míg a kémiai jellemzők meghatározását Perten IM 9500 készülékkel végzik.

A központi laboratóriumot az ISO/IEC 17025:2017 szabvány környezeti követelményrendszerének megfelelően alakították ki. A laboratórium a jelen ismertető megírása idején még nem rendelkezett NAH akkreditációs státusszal, azonban a vizsgálati módszerek és eljárások a nemzetközi és hazai szabványelőírásokon alapulnak. A kiváló műszerezettségű és korszerű anyagfelhasználással épült laboratóriumot úgy tervezték, hogy a jövőben várható feladatokat is maradéktalanul elláthassa. Az építési és kivitelezési munkálatok befejeztével egy a 21. század kihívásainak megfelelő modern laboratórium kezdte meg működését. A laboratórium padlózata és a munkaasztalok felülete sav és lúgálló anyagokból készült. A veszélyes munkafolyamatok számára három vegyifülkét alakítottak ki, emellett egyedi pontelszívók

is működnek a laboratóriumban. Egyedi elszívással rendelkező vegyszertárolót és különálló méregraktárt alakítottak ki a vizsgálatok során felhasznált vegyszerek tárolására. A használt vegyszerek átmeneti tárolása veszélyes hulladék tároló helyiségben történik. Az általános analitikai vizsgálatok elvégzéséhez laboratóriumi analitikai- és táramélegek, laboratóriumi centrifuga, pH-mérő műszerek, konduktométerek, automata pipetták, büretták, mágneses keverővel ellátott fűtőlapok, halogén-infra fűtőegységgel ellátott nedvességmérő műszerek és általános üvegeszközök állnak rendelkezésre.

A mintaátadást követően a beérkező mintákból a laboratóriumi mintákat különálló helyiségben készítik elő. Az előkészítés az esetek jelentős részében homogenizálást és a megfelelő szemcseméret elérését szolgáló aprító műveleteket jelenti. A minták kívánt szemcseméretének beállítása Retsch ZM 200 típusú laboratóriumi őrlővel történik. Saját elszívó rendszerrel kapcsolt izzítóke-mence (Magma Therm MT1200) és szárazanyag-tartalom meghatározáshoz alkalmazott VWR Ventiline 180 prime légkeveréses szárítószekevény áll rendelkezésre. A mintaelőkészítő helyiségben a gyártásközi- és késztermékek szemcseméret eloszlásának meghatározása szita-rendszereken történik száraz (Retsch AS 200) és nedves (CISA BA200N) minták esetén. A mintaelőkészítő helyiségben található a laboratóriumi vizsgálatok számára szükséges nagy tisztaságú ioncserélt víz előállítására szolgáló Merck-Millipore Rios DI-3-UV és Synergy UV víztisztító rendszer.

A mintaelőkészítést követően a vizsgálati minták főbb tápérték paramétereinek meghatározása szintén elkülönített helyiségben történik. A fehérjetartalom meghatározása a keletkező savgőzök elnyeletését és semlegesítését biztosító egységgel kiegészített Velp DLK20 automata roncsoló blokkot használnak. A roncsolást követő nitrogén- és fehérjetartalom meghatározását Velp UDK 169 automata desztilláló egység végzi, amely automata mintaváltó egységgel rendelkezik, amely a vizsgálati humán erőforrás igényét csökkenti. A minták nyerszsír-tartalmának meghatározását Velp SER 158 készülékkel végzik, amelyhez egy oldószer visszanyerő egység tartozik, jelentősen csökkenti a felhasználásra kerülő szerves oldószerek mennyiségét. A nyersrost-tartalom meghatározásához Velp FIWE-6 készülék áll rendelkezésre, amelyhez egy Velp Coex-6 típusú „hideg-extraktor-t” szereztek be a magasabb zsírtartalommal rendelkező vizsgálati minták előzetes, gyors zsírmentesítése céljából. A laboratóriumban található Faithful DZ1BCII vákuum szárítószekevény gyors és kíméletes szárítást tesz lehetővé.

¹ Viresol Kft.

A „klasszikus” nedveskémiai és műszeres vizsgálatok jelentős része az általános analitikai laboratóriumban zajlik. A búza alapanyag, a gyártásközi és a késztermékek vizsgálata meghatározott vizsgálati rend szerint történik. Búza- és lisztvizsgálatokra a nemzetközi gyakorlatban is elfogadott Perten készülékeket használják (**1. ábra**). Az esesszám FN1000, a sikértartalom, a gluténindex és vízmegkötő képesség meghatározásához Glutomatic, míg a sérült keményítőtartalom meghatározásához Chopin SDmatic készülékeket használnak. A titrimetriás vizsgálatokat Hach gyártmányú potenciometriás titrálórokkal (Titralab1000), illetve Karl Fischer térfogati titrálásra alkalmas készülékkel (KF1000) végzik. A vizsgálati minták cukor- és keményítőtartalmának meghatározása Anton-Paar készülékekkel (Abbemat 300 refraktométer, MCP5100 polariméter), az alkoholtartalmú minták sűrűségének és alkoholtartalmának mérése Anton-Paar DMA 4500 M készülékkel (MKEH- M1000765) történik. A késztermékek mikotoxin tartalmát (aflatoxin, aflatoxin B1, ochratoxin-A, deoxinivalenol, zearalenon, T2/HT2) Neogen Veratox ELISA kit használatával határozzák meg.

A kromatográfiás készülékek számára a laboratóriumban az akkreditációs szabvány követelményeinek megfelelően külön helyiséget alakítottak ki. A folyadékkromatográfiás műszerek RI és UV/VIS detektorral, a gázkromatográfok FID detektorral rendelkeznek. A fermentációs és a keményítő hidrolízis-folyamatok nyomkövetése Shimadzu gyártmányú folyadékkromatográfiás (HPLC) műszerekkel történik. Szintén Shimadzu gyártmányú gázkromatográfiás készülékeket alkalmaznak az alkohol gyártásközi- és késztermékek szennyező komponenseinek vizsgálatára és az alkohol denaturálása során adagolásra kerülő denaturáló szerek kvalitatív és kvantitatív meghatározása (**2. ábra**).

A külön helyiségben található spektroszkópiai laboratóriumban zajlanak az atom- és molekulaszpektroszkópiai vizsgálatok. A molekulaszpektroszkópiai vizsgálatokhoz Shimadzu UV-1280 spektrofotométert használnak. Az atomspektroszkópiai vizsgálatok során makro-, mikroelemeket és nehézfém-tartalmat határoznak meg. A vizsgálatokat Agilent 4210 MP-AES atomemissziós készülékkel végzik (**3. ábra**). A készülékkel elért kimutatási határ 0,1-15 µg/L között változik a meghatározni kívánt elemek függvényében. A készülék működtetése nem igényel az atomspektroszkópiában használatos műszergázokat. Az atomok gerjesztése mikrohullámmal generált nitrogén plazmában történik, amelyhez a szükséges nagytisztaságú nitrogént egy Mistral EVolution kompresszor kombinált nitrogéngenerátor biztosítja. A készülék a levegő nitrogénjét használja fel plazmagázként, ami lecsökkenti a multieleemes analízis költségét, és egyúttal kiküszöböli a tűzveszélyes acetilén, illetve más költséges analitikai gázok használatát. Az atomspektroszkópiai vizsgálatokhoz szükséges precíz és jól reprodukálható mintaelőkészítéshez Milestone Ethos Easy zárt rendszerű mikrohullámú roncsoló készüléket használnak. A készülék segítségével a roncsolás nyomás és hőmérséklet kontroll alatt zajlik. A berendezés használatával a roncsolási idő töredéke az atmoszférikus eljárással elvégzett mintaelőkészítési eljárásnak.

A laboratórium mikrobiológiai egysége általános mikrobiológiai és steril zónából áll. A mikrobiológiai egység légcseréje HEPA szűrőrendszeren keresztül történik, amely a csiramentes levegőt biztosítja. Az általános mikrobiológiai részlegben sterilizációs folyamatokat (Raypa AES10 autokláv), a vizsgálati minták előkészítését és

a telepszám meghatározását végzik. A steril zónában Faster Safefast Classic 209 típusú lamináris áramlású fülkében végzik a minták hígítását, szűrését és a leoltásokat. A mikrobiológiai fertőzöttség megállapítására általánosan gyors vizsgálati eljárásokat (3M Petrifilm) alkalmaznak. A Petrifilmen kapott eredmények megerősítésére a laboratóriumban „klasszikus” lemezöntéses vizsgálatokat végeznek. A telepszám-meghatározásokhoz Memmert IN110 termosztát szekrényeket használnak.

A laboratóriumban jelentős kutatás-fejlesztési tevékenység is zajlik. Ennek keretében az egyik legfontosabb program a maltodextrin gyártástechnológia optimalizálása és a speciális vevői igényeknek megfelelő termék előállítása, amely a GINOP-2.2.1-15-2017-00048 projekt keretében valósul meg. A maltodextrin felhasználása az élelmiszeriparban emelkedő tendenciát mutat az európai piacon. E terméket főként állományjavítóként használják pudingokban, joghurtokban, bébiételekben, de igényli a sörpárlás is, és izomerősítő készítmények összetevőjeként is felhasználják. A mérsékelt édes por formában értékesített módosított keményítő felhasználási területeit a dextróz ekvivalens (DE) érték határozza meg, amely a keményítő bontási fokát jellemzi, és keményítőbontó enzimek segítségével állítható be. A sokrétű felhasználás rugalmas technológiai eljárást igényel abból a célból, hogy a végtermék legfőbb tulajdonságát, a megfelelő édességet és jó oldhatóságot biztosíthassuk. Ennek érdekében laboratóriumi körülmények között kell meghatározni azokat az enzimreceptúrákat, melyekkel a maltodextrin előállítás a speciális vevői igényekhez illeszthető.

Egy másik fő kísérleti irány a keményítő retrogradációs tulajdonságainak vizsgálata. Olyan technológia kifejlesztésével foglalkozunk, amellyel az étkezési búzakeményítő utókrisztályosodási hajlama (retrogradációja) jelentősen csökkenthető egyéb adalékok hozzáadása nélkül. Napjainkban ugyanis a keményítőt sok területen használja az élelmiszeripar, azonban a jelentős retrogradációs hajlam következtében a keményítőt tartalmazó termék minősége romlik. Jó példa erre a pudingok felületén megjelenő vizesedés. Jelenleg ezt a hajlamot leggyakrabban úgy szorítják vissza, hogy olyan adalékanyagokat használnak, melyek a keményítővel kölcsönhatásba lépnek és visszaszorítják a retrogradációs folyamatokat a termék tárolása során. Leggyakrabban cukrokat, poliszacharidokat, például gumiarábikumot alkalmaznak ebből a célból. Ezek az adalékok természetesen nem károsak, de nem is feltétlenül hasznosak az ember számára. Ennek fényében tehát kiemelkedően fontos lenne, ha a keményítő retrogradációs hajlamát adalékanyag és kémiai módosítás nélkül vissza lehetne szorítani. Az szakirodalomban több módszer is ismert, amelyekkel a retrogradáció késleltethető, de ezeket még nagyipari méretekben nem alkalmazzák. Jelenleg folyó fejlesztésünk célja az egyik ilyen módszernek, nevezetesen a keményítő mechanikai kezelésének a nagyüzemi bevezetése. Ennek az innovatív technológiának segítségével a retrogradációra érzékeny termékek eltarthatósága és minősége nagymértékben javítható.

Az említettek mellett a kutatás-fejlesztési munkák kiterjednek a vitális gluténtermék sütési tulajdonságainak javítására és a natív keményítőtermék esetében az egyedi vevői igények kielégítése, amely enzimes és viszkozimetriás alkalmazástechnológiai vizsgálatokat igényel.



1. ábra. Gabona- és lisztvizsgáló készülékek (Perten)
Figure 1. Grain and flour testing equipments (Perten)



2. ábra. Gázkromatográfiai műszerek (Shimadzu)
Figure 2. Gas chromatographic instruments (Shimadzu)



3. ábra. MP-AES készülék (Agilent)
Figure 3. MP-AES device (Agilent)



Szerzők (balról-jobbra: Dr. Barta Zsolt, Dr. Rapi Sándor, †Dr. habil. Forgó Péter)
The authors (left to right: Dr. Zsolt Barta, Dr. Sándor Rapi, †Dr. habil. Péter Forgó)

Dr. Sándor Rapi head of the laboratory¹, † **Dr. habil. Péter Forgó** developing engineer¹,
Dr. Zsolt Barta QM and HSE manager¹

Description of the quality control and research laboratory of Viresol Ltd. Visonta, Hungary

In one of the most modern wheat processing plants in Europe, the high-quality production technology and the high level of quality required by customers when selling finished products require a high-quality testing laboratory background. Under this the mentioned requirements, the Quality Control and Research Laboratory was established and became operational in January 2019. The laboratory carries out quality control of raw materials, intermediate products and finished products related to production processes on a daily basis. The laboratory operates according to a continuous work schedule. The staff of the laboratory consists secondary, higher and scientific degrees and specialized qualifications employees. The laboratory analytical results are recorded in an SAP corporate governance system that ensures complete traceability throughout the production process.

One of the most important tasks of the laboratory is the batch testing of incoming raw materials, which is performed in a separate unit, the sampling laboratory. The sampling laboratory carries out a batch test of the incoming wheat raw material before intake, which quantifies mycotoxins (aflatoxin, ochratoxin-A, deoxynivalenol, zearalenone, T2/HT2), physical characteristics (hectolitre weight, miscibility, foreign materials, insect damaged seeds, broken seeds, chemical content) and basic ingredient parameters (moisture content, crude protein content, wet gluten content). Mycotoxins are quantified using the Neogen Reveal Q + max KIT system according to GIFSA/AOAC method. The physical tests are performed according to the methods of the MSZ 6383: 2017 standard, while the determination of the chemical properties is performed with a Perten IM 9500 device.

The central laboratory has been set up in accordance with the environmental requirements of ISO/IEC 17025: 2017. The laboratory did not yet have HAA (Hungarian Accreditation Authority) accreditation status during the time of writing of these paper, however the testing methods and procedures are based on international and domestic standards. The laboratory, built with excellent instrumentation and state-of-the-art materials, has been designed to perform the tasks expected in the future. With the completion of construction and construction work, a modern laboratory to meet the challenges of the 21st century began operations. The floor of the laboratory and the surface of the workbenches are made of acid and alkali resistant materials. Three chemical hoods have been set up for hazardous work processes,

and there are also individual point air extractors in the laboratory. A chemical storage room were developed with individual air extraction and a separate poison depot store for the chemicals used in the laboratory. Used chemicals are temporarily stored in a hazardous waste storage room. For general analytical tests, analytical and tare balances, laboratory centrifuges, pH measuring instruments, conductometers, automatic pipettes, burettes, heating plates with magnetic stirrer, humidity measuring instruments with halogen-infrared heater and general glassware are available.

After receiving the bulk samples, the laboratory samples are prepared in a separate room. In most cases, preparation involves homogenization and grinding operations to achieve the appropriate particle size. The desired particle size of the samples is set with a Retsch ZM 200 laboratory grinder. A self-contained heating oven (Magmatherm MT1200) and a VWR Ventiline 180 prime airdrying oven for dry matter determination are available. In the sample preparation room, the particle size distribution of intermediate and finished products is determined on sieve systems for dry (Retsch AS 200) and wet (CISA BA200N) samples. The Merck-Millipore Rios DI-3-UV and Synergy UV water purification systems for the production of high-purity deionized water for laboratory tests are located in the sample preparation room also.

After sample preparation, the main nutritional parameters of the laboratory samples are also investigated in a separate room. Determination of protein content A Velp DLK20 automatic disintegration block supplemented with a unit for the absorption and neutralization of the generated acid vapors is used. The determination of nitrogen and protein content after digestion is performed by a Velp UDK 169 automatic distillation unit, which has an automatic sample exchange unit, which reduces the human resource requirement for the tests. The determination of the crude fat content of the samples is performed with a Velp SER 158, which is equipped with a solvent recovery unit, significantly reducing the amount of organic solvents used. To determine the crude fiber content, a Velp FIWE-6 apparatus is available for which a Velp Coex-6 type “cold extractor” was purchased for the preliminary, rapid degreasing of test samples with a higher fat content. The Faithful DZ1BCII vacuum oven in the laboratory allows fast and careful drying.

Much of the “classical” wet chemistry and instrumental testing takes place in the general analytical laboratory.

¹ Viresol Kft.

The raw crop, intermediate products and finished products are tested according to a specific test procedure. Perten devices, which are also accepted in international practice, are used for wheat and flour tests (**Figure 1.**). Glutomatic are used to determine FN1000, gluten content, gluten index and water-binding capacity, while Chopin SDmatic devices are used to determine damaged starch content. Titrimetric tests are performed with Hach potentiometric titrators (Titralab1000) and a Karl Fischer volumetric titrator (KF1000). The sugar and starch contents of the test samples are determined with Anton-Paar instruments (Abbemat 300 refractometer, MCP5100 polarimeter), and the density and alcohol content of alcoholic samples are measured with an Anton-Paar DMA 4500 M instrument (MKEH-M1000765). The mycotoxin content of the finished products (aflatoxin B1, ochratoxin-A, deoxynivalenol, zearalenone, T2/HT2) is determined using the Neogen Veratox ELISA kit.

A separate room has been set up in the laboratory for the chromatographic equipment in accordance with the requirements of the accreditation standard. Liquid chromatographic instruments have RI and UV/VIS detectors, gas chromatographs have FIDs. Fermentation and starch hydrolysis processes are monitored using Shimadzu liquid chromatography (HPLC) instruments. Shimadzu gas chromatographs are also used to examine the contaminants of intermediate and finished alcohol products and to qualitatively and quantitatively determine the denaturants added during the denaturation of alcohol (**Figure 2.**).

Atomic and molecular spectroscopic studies are performed in a spectroscopic laboratory located in a separate room too. A Shimadzu UV-1280 spectrophotometer is used for molecular spectroscopy. Atomic spectroscopic studies determine the content of macro-, microelements and heavy metals.

The analytical procedures are performed with an Agilent 4210 MP-AES atomic emission device (**Figure 3.**). The detection limit achieved with the device varies between 0.1-15 µg/L depending on the behaviour of the elements to be determined. Operation of the instrument does not require instrument gases used in atomic spectroscopy. The atoms of the sample are excited in microwave-generated nitrogen plasma. For plasma the required high-purity nitrogen is provided by a nitrogen generator device combined with a Mistral EVolution compressor. The instrument gets nitrogen from the ambient air as plasma gas, reducing the cost of multi-element analysis and additionally eliminates the use of flammable acetylene and other expensive analytical gases. For precise and reproducible sample preparation for atomic spectroscopic studies, a Milestone Ethos Easy closed system microwave digester is used. In the device the digestion of samples takes place under pressure and temperature control. Using the equipment, the digestion time is more less, than the sample preparation process performed by the atmospheric process.

The microbiological unit of the laboratory consists of a general microbiological and sterile zone. The microbiological unit is ventilated through a HEPA filter system that provides sterile air. In the general microbiology department, sterilization processes (Raypa AES10 autoclave), preparation of test samples and determination of colony number are performed. In the sterile zone, samples are diluted, filtered, and inoculated

in a Faster Safefast Classic 209 laminar flow cabinet. Rapid test procedures (3M Petrifilm) are generally used to determine microbiological contamination. To confirm the results obtained on Petrifilm, "classical" plate casting tests are performed in the laboratory. Memmert IN110 thermostat cabinets are used for battery number determinations.

The laboratory also has significant research and development activities. Within this framework, one of the most important programs is the optimization of maltodextrin production technology and the production of a product that meets the special needs of customers, which will be implemented within the framework of the GINOP-2.2.1-15-2017-00048 project. The use of maltodextrin in the food industry is on the rise in the European market. This product is mainly used as a stock enhancer in puddings, yoghurts, baby foods, but is also required by the brewing industry and is also used as an ingredient in muscle strengthening products. The uses of modified starch sold in the form of a moderately sweet powder are determined by the dextrose equivalent (DE) value, which characterizes the degree of degradation of the starch and can be adjusted by means of starch-degrading enzymes. The versatile use requires a flexible technological process in order to ensure the main property of the final product, the right sweetness and good solubility. To this end, the enzyme formulations with which maltodextrin production can be adapted to specific customer needs should be determined under laboratory conditions.

Another major experimental direction is the study of the retrogradation properties of starch. We are working on the development of a technology that can significantly reduce the tendency of post-crystallization (retrogradation) of edible wheat starch without the addition of other additives. Today, starch is used in many areas in the food industry, but due to the significant tendency to retrograde, the quality of the product containing starch is deteriorating. A good example of this is the waterlogging which appears on the surface of puddings. Currently, this tendency is most often suppressed by the use of additives that interact with the starch and suppress retrogradation processes during storage of the product. Sugars, polysaccharides such as gum-arabic are most commonly used for this purpose. These additives aren't harmful, of course, but they are not necessarily beneficial to humans. Hence it would be extremely important if the tendency of starch to retrograde could be reduced without additives and chemical modification. Several methods are known in the professional literature to delay retrogradation, but these are not yet used on a large scale. Our current development is aimed at the large-scale introduction of one such method, namely the mechanical treatment of starch. With the help of this innovative technology, the shelf life and quality of products that are sensitive to retrogradation can be greatly improved.

In addition to the mentioned above, research and development work includes improving the baking properties of the vital gluten product and – in the case of the native starch product – satisfies the individual customer. It requires enzymatic and viscometric application technology experiments.

Szerzőink / Authors

AJTONY Zsolt Dr. Széchenyi István Egyetem, Mezőgazdaság és Élelmiszertudományi Kar, Élelmiszertudományi Tanszék
Széchenyi István University, Faculty of Agricultural and Food Sciences, Department of Food Science

ANTAL Otilia Dr. Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ, Élelmiszer-tudományi Kutatóintézet,
Biológia Osztály / National Agricultural Research and Innovation Centre, Food Research Institute

BÁNÁTI Diána Prof. Dr. Magyar Tudományos Akadémia (MTA) KÖTEB Élelmiszer-biztonsági Albizottság, Szegedi Tudományegyetem, Mérnöki Kar / Food Safety Committee of the Hungarian Academy of Sciences, Budapest, Hungary
University of Szeged Faculty of Engineering, Hungary

BARTA Zsolt Dr. QM és HSE igazgató, Viresol Kft. / Director of QM and HSE, Viresol Ltd.

CSAPÓ János Prof. Dr. Debreceni Egyetem, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar,
Élelmiszertudományi Intézet; SAPIENTIA Erdélyi Magyar Tudományegyetem, Csíkszeredai Kar, Élelmiszertudományi
Tanszék / University of Debrecen, Faculty of Agricultural and Food Sciences and Environmental Management, Institute
of Food Technology; SAPIENTIA Hungarian University of Transylvania, Faculty of Miercurea Ciuc, Department of Food
Science

† **FORGÓ Péter Dr. habil.** fejlesztési mérnök, Viresol Kft. / Development engineer, Viresol Ltd.

HANCZNÉ DR. LAKATOS Erika Széchenyi István Egyetem, Mezőgazdaság és Élelmiszertudományi Kar,
Élelmiszertudományi Tanszék / Széchenyi István University, Faculty of Agricultural and Food Sciences, Department of
Food Science

JUHÁSZNÉ TÓTH Réka Debreceni Egyetem, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar,
Élelmiszertudományi Intézet; Debreceni Egyetem, Állattenyésztési Tudományok Doktori Iskola
University of Debrecen, Faculty of Agricultural and Food Sciences and Environmental Management,
Institute of Food Technology; University of Debrecen Doctoral School of Animal Science

KISS Dóra Debreceni Egyetem, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar,
Élelmiszertudományi Intézet; Debreceni Egyetem, Állattenyésztési Tudományok Doktori Iskola
University of Debrecen, Faculty of Agricultural and Food Sciences and Environmental Management,
Institute of Food Technology; University of Debrecen Doctoral School of Animal Science

KOVÁCSNÉ MADAR Ágota Debreceni Egyetem, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási
Kar, Kertészettudományi Intézet / University of Debrecen, Faculty of Agricultural and Food Sciences and Environmental
Management, Institute of Horticulture

NAGY Balázs Vince Dr. Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Gépészmérnöki Kar, Mechatronika,
Optika és Gépészeti Informatika Tanszék / Budapest University of Technology and Economics, Faculty of Mechanical
Engineering, Department of Mechatronics, Optics and Mechanical Engineering Informatics

NÉMETHNÉ SZERDAHELYI Emőke Dr. Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ, Élelmiszer-tudományi
Kutatóintézet, Biológia Osztály / National Agricultural Research and Innovation Centre, Food Research Institute

NYITRAI Ákos Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Gépészmérnöki Kar, Mechatronika, Optika és
Gépészeti Informatika Tanszék / Budapest University of Technology and Economics, Faculty of Mechanical Engineering,
Department of Mechatronics, Optics and Mechanical Engineering Informatics

RAPI Sándor Dr. laboratórium vezető, Viresol Kft. / Head of laboratory, Viresol Ltd.

SIPOS László Dr. Szent István Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, Árukezelési és Érzékszervi Minősítési Tanszék
Szent István University, Faculty of Food Science, Department of Postharvest Science and Sensory Evaluation

SZABÓ Dániel Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Gépészmérnöki Kar, Mechatronika, Optika és
Gépészeti Informatika Tanszék / Budapest University of Technology and Economics, Faculty of Mechanical Engineering,
Department of Mechatronics, Optics and Mechanical Engineering Informatics

SZALAY Anna Magyar Szabványügyi Testület / Hungarian Standards Institution

SZÉKELYHIDI Rita Széchenyi István Egyetem, Mezőgazdaság és Élelmiszertudományi Kar, Élelmiszertudományi
Tanszék / Széchenyi István University, Faculty of Agricultural and Food Sciences, Department of Food Science

SZIGETI Tamás Dr. WESSLING Hungary Kft. / WESSLING Hungary Ltd.

TAKÁCS Krisztina Dr. Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ, Élelmiszer-tudományi Kutatóintézet, Biológia Osztály
National Agricultural Research and Innovation Centre, Food Research Institute

TAKÁCSNÉ HÁJOS Mária Dr. Debreceni Egyetem, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási
Kar, Kertészettudományi Intézet / University of Debrecen, Faculty of Agricultural and Food Sciences and Environmental
Management, Institute of Horticulture

URBIN Ágnes Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Gépészmérnöki Kar, Mechatronika, Optika és
Gépészeti Informatika Tanszék / Budapest University of Technology and Economics, Faculty of Mechanical Engineering,
Department of Mechatronics, Optics and Mechanical Engineering Informatics

ZURBÓ Zsófia Debreceni Egyetem, Mezőgazdaság-, Élelmiszer-tudományi és Környezetgazdálkodási Kar,
Élelmiszertudományi Intézet; Debreceni Egyetem, Táplálkozás- és Élelmiszertudományi Doktori Iskola
University of Debrecen, Faculty of Agricultural and Food Sciences and Environmental Management, Institute of Food
Technology; University of Debrecen Doctoral School of Nutrition and Food Science

Kiadó / Publisher: Wessling Nemzetközi Kutató és Oktató Központ Nonprofit Kft. / Wessling International Research and Educational Centre Nonprofit Ltd. / **HU ISSN 2676-8704**

Felelős kiadó / Director: Dr. ZANATHY László ügyvezető igazgató / CEO

Főszerkesztő / Editor in chief: Dr. SZIGETI Tamás János

Szerkesztő / Editor: KONECSNY Tímea, SZUNYOGH Gábor

Angol fordítás / English translation: Dr. HANTOSI Zsolt

Honlap adminisztrátor / web admin.: JUHÁSZ Péter

Szerkesztőbizottság / Editorial Board: AMBRUS Árpád Dr. (ny. egy. tanár, NÉBIH főtanácsadó / ret. univ. prof., NFCSSO chief advisor) • BÁNÁTI Diána Dr. (egy. tanár, rektori megbízott, Szegedi Tudományegyetem Mérnöki Kar / Full prof. special advisor of the rector University of Szeged Faculty of Engineering) • BARNA Sarolta Dr. (ig., NÉBIH KÉI / dir. NFCSSO Directorate of Risk Assessment) • BÉKÉS Ferenc Dr. (az MTA külső tagja, igazgató, FBFD PTY LTD NSW Ausztrália / External Member of Hung. Acad. Sci., director of FBFD PTY LTD NSW Australia) • BIACS Péter Dr. (ny. egy. tanár, SZIE / ret. univ. prof. SZIU) • BIRÓ György Dr. (ny. egy. tanár, SOTE Egészségtudományi Kar / ret. univ. prof., SMU Faculty of Health Sci.) • BOROSS Ferenc Dr. (üv. elnök, EOQ MNB / executive chairman, EOQ HNC) • CSAPÓ János Dr. (egy. tanár, Debreceni Egyetem, Sapientia Egyetem, Csíkszeredai Kar / univ. prof., Univ. Debrecen, Sapientia Univ., Miercurea Ciuc) • DANK Magdolna Dr. (egyetemi tanár Semmelweis Egyetem Onkológiai Intézet / uni. prof. Semmelweis University, Inst. of Oncology) • FARKAS József Dr. (ny. egy. tanár, akadémikus / ret. univ. prof., academician) • GAGÁN Anita (J.S. Hamilton Hungaria Kft.) • GYIMES Ernő Dr. (egy. docens, Szegedi Egyetem Mérnöki Kar / univ. docent, Univ. Szeged Faculty of Eng.) • GYŐRI Zoltán Dr. (ny. egy. tanár, Debreceni Egyetem / ret. univ. prof., Univ. Debrecen) • HANTOSI Zsolt Dr. (angol nyelvi lektor, WESSLING Hungary Kft. / english lecturer, WESSLING Hungary Kft.) • KASZA Gyula Dr. (elnöki tanácsadó / presidential advisor, NÉBIH) • KONECSNY Tímea (szerkesztő, WESSLING Hungary Kft. / editor, WESSLING Hungary Kft.) • KOVÁCS Béla Dr. (egy. tanár, Debreceni Egyetem / univ. prof., Univ. Debrecen) • MARÁZ Anna Dr. (egy. tanár, SZIE / univ. prof., SZIU) • MOLNÁR Pál Dr. (egy. tanár, elnök, EOQ MNB / univ. prof., chairman, EOQ HNC) • NAGY Edit (főtitkár, MAVÍZ / secretary general, Hungarian Water Utility Association) • POPOVICS Anett Dr. (egyetemi adjunktus, Óbudai Egyetem, Keleti Károly Gazdasági Kar / senior lecturer, University of Óbuda, Keleti Károly Faculty of Economics) • SALGÓ András Dr. (ny. egy. tanár, BME / ret. univ. prof. / BTU) • SÁRDI Éva Dr. (egyetemi tanár SZIE Genetika és Növénynevelés Tanszék / univ. prof. Dept. of Genetics and Plant Breeding) • SIMONNÉ SARKADI Livia Prof. Dr. habil. (egy. tanár, SZIE Élelmiszertudományi Kar / univ. prof., SZIU Faculty of Food Sci.) • SIPOS László Dr. (egy. docens, SZIE / univ. docent, SZIU) • SOHÁR Pálné Dr. (ny. főv. vez., NÉBIH / ret. head of dept., NFCSSO) • SZABÓ S. András Dr. (tanár, Ward Mária Gimnázium / prof., Ward Mária High School) • SZALAY Anna (szabványosító menedzser, Magyar Szabványügyi Testület (MSZT) / standardization manager, Hungarian Standards Institution (HSI)) • SZEITZNÉ SZABÓ Mária Dr. (ig., NÉBIH KÉI / deputy director, NFCSSO Directorate of Risk Assessment) • SZIGETI Tamás János Dr. (főszerkesztő, Wessling Nonprofit Kft. / editor in chief, Wessling Nonprofit Ltd.) • SZUNYOGH Gábor (szerkesztő, Wessling Nonprofit Kft. / editor, Wessling Nonprofit Ltd.) • TÖMÖSKÖZI Sándor Dr. (egy. docens, BME / univ. docent, BTU) • VARGA László Dr. (egy. tanár, Ny-Mo Egy. Élelmiszer-tud. Intézet / univ. prof., Univ. of West Hungary, Inst. for Food Sci.) • WESSLING, Diana (a családi vállalkozás képviselője, résztulajdonos / representative family business, share holder, WESSLING Holding GmbH & Co. KG, Altenberge, Germany) • ZANATHY László Dr. (felelős kiadó, ügyvezető ig., Wessling Nonprofit Kft. / CEO Wessling Nonprofit Ltd.)

Nyomdai előkészítés / Layout dtp: Adworks Kft., info@adworks.hu

Nyomda / Press office: Készült a Possum Kft. gondozásában. (1093 Budapest, Lónyay utca 43.)

Elérhetőségeink / Contact: H-1045 Budapest, Anonymus utca 6., +36 1 87 23 662, www.eviko.hu szigeti.tamas@wessling.hu, +36 30 39 69 109; konecsny.timea@wessling.hu, +36 20 53 51 160

Hirdetés / Advertising: Konecsny Tímea, +36 20 53 51 160, konecsny.timea@wessling.hu

A lap negyedévente, elektronikus formában jelenik meg.

This journal appears quarterly in a year, in electronic form.

Minden jog fenntartva! / All right reserved!

A hivatkozással nem rendelkező képek illusztrációk. / The pictures without any references are illustrations.

A kiadó írásbeli hozzájárulása nélkül tilos a kiadvány bármilyen eljárással történő sokszorosítása, másolása, illetve az így előállított másolatok terjesztése. / Without the written permit of the publisher, duplication, copying or dissemination of this paper by any way is prohibited.

Az Élelmiszervizsgálati Közleményeket a Wessling Nemzetközi Kutató és Oktató Központ Nonprofit Kft. adja ki a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatallal (NÉBIH) együttműködve. / This Journal of Food Investigation is issued by the Wessling International Research and Educational Centre Nonprofit Ltd. with cooperation the National Food Chain Safety Office (NÉBIH).

A szakfolyóiratot a következő figyelő szolgáltatások vették jegyzékbe és referálják / The Journal of Food Investigation is have been referred and listed by the next monitoring services: SCOPUS, SCIMAGO, MATARKA (Magyar folyóiratok tartalomjegyzéke/Hungarian Periodicals Table of Contents), Thomson Reuters, Elsevier's Abstracting and Indexing Database



Megbízható Mennyiségi Meghatározás

Minden komponens, mátrix és felhasználó esetében

A tudományos és üzleti célok elérése csak megbízható eredmények birtokában lehetséges.

A felhasználási területtől függetlenül a Thermo Scientific™ TSQ hármaskvadrupol tömegspektrometriás rendszerei kiemelkedő precizitást biztosítanak a mennyiségi meghatározási feladatokra. Nagy felbontású SRM üzemmód, robusztusság, megbízhatóság és érzékenység egy készülékben, mely segítségével minden felhasználó a mérendő komponenstől vagy a mátrixtól függetlenül megbízható mérési eredményekhez juthat.



Thermo Scientific™ TSQ Altis™
hármaskvadrupol tömegspektrométer



Thermo Scientific™ TSQ Quantis™
hármaskvadrupol tömegspektrométer



Thermo Scientific™ TSQ Fortis™
hármaskvadrupol tömegspektrométer

További információk:

[thermofisher.com/confidentquantitation](https://www.thermofisher.com/confidentquantitation)

Kizárólagos képviselő:

UNICAM Magyarország Kft.
1144 Budapest, Kőszeg utca 25.
Telefon: +36 1 221 5536
E-mail: unicam@unicam.hu
Web: www.unicam.hu

UNICAM