

DIPLOMAMUNKA

Diplomamunka

Matejka Gergely

2024



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Budai Campus

Élelmiszer biztonsági és minőségi mérnök mesterképzés

**MÓDSZERFEJLESZTÉS CSOKOLÁDÉ CUKORTALMÁNAK
RONCSOLÁSMENTES VIZSGÁLATÁRA**

Belső konzulens: Dr. Benes Eszter Luca

Beosztás egyetemi adjunktus

Készítette: Matejka Gergely

Budapest

2024

Tartalom

BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK	3
1. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	5
1.1. A CSOKOLÁDÉ JELENTŐSÉGE EZ EURÓPAI UNIÓBAN	5
1.2. CSOKOLÁDÉ ÁLTALÁNOS JELLEMZÉSE.....	5
1.3. A KAKAO ÉS CSOKOLÁDÉ CUKORTARTALMÁT BEFOLYÁSOLÓ TÉNYEZŐK	7
1.3.1. A kakaóbab szénhidrátjai	7
1.3.2. Fermentáció	7
1.3.3. Szárítás és pörkölés	9
1.4. A CSOKOLÁDÉ CUKORTARTALMA ÉS ANNAK MENNYISÉGI VIZSGÁLATA	10
1.5. KÖZELI INFRAVÖRÖS SPEKTROSKÓPIA ALKALMAZÁSÁNAK LEHETŐSÉGEI	11
2. ANYAG ÉS MÓDSZER.....	13
2.1. VIZSGÁLT MINTÁK.....	13
2.2. VEGYSZEREK ÉS REAGENSEK.....	13
2.3. MINTAELŐKÉSZÍTÉSI MÓDSZER	14
2.4. CUKORTARTALOM MEGHATÁROZÁSA FOLYADÉKKROMATOGRÁFIÁS MÓDSZERREL ...	15
2.5. KÖZELI INFRAVÖRÖS SPEKTRUMOK RÖGZÍTÉSE.....	16
2.6. FOLYADÉKKROMATOGRÁFIÁS MÓDSZER VALIDÁLÁSA	16
2.7. SPEKTRÁLIS ADATOK ELEMZÉSE	17
2.7.1. Adat-előkezelési módszerek.....	17
2.7.2. Főkomponens elemzés	18
2.7.3. Változó kiválasztási módszer.....	18
2.7.4. PLS regresszió.....	19
3. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK	20
3.1. FOLYADÉKKROMATOGRÁFIÁS MÓDSZER VALIDÁLÁSA	20
3.2. REFERENCIA ADATOK ÉRTÉKELÉSE.....	21
3.3. SPEKTRÁLIS ADATOK KIÉRTÉKELÉSE	22
3.4. FŐKOMPONENS ELEMZÉS EREDMÉNYE.....	24
3.5. RÉSZLEGES LEGKISEBB NÉGYZETEK ELVE REGRESSZIÓ (PLSR)	26
4. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK.....	30
5. ÖSSZEFOGLALÁS.....	31
IRODALOM JEGYZÉK:.....	32
ÁBRAJEGYZÉK	35
KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS	36

BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

Napjainkban az élelmiszertermelés jellemzően nagy volumenben és központosítva történik. Ennek eredményeként a megsokszorozódott termelés mellett nem mindig van idő hosszadalmasabb élelmiszervizsgálatokra. A klasszikus és nagyműszeres analitikai módszerek pedig hosszú vizsgálati és mintaelőkészítési idővel rendelkeznek. Emiatt fontos olyan technikák kifejlesztése, amelyek a lehető leghamarabb szolgáltat megbízható információkat. Az általánosságban rendelkezésre álló szűkös időkeret pedig eredményezhet problémákat a gyártás során. Ennek okán egyre nagyobb teret kapnak a roncsolásmentes vizsgálatok, ilyen módszerek közé tartozik a közeli infravörös spektroszkópia. Nagy előnye, hogy nem, vagy csak minimális mintaelőkészítést igényel, amely általában valamilyen fizikai műveletet jelent. Ennek eredményeképpen időmegtakarításról lehet beszélni. Nincs szükség vegyszerek alkalmazására, ami egyrészt költségsökkentő, másrészt környezetkímélő módszerré teszi. Az eszköz spektrofotometriás elven működik, ezért nincs szükség magas szakképzettségre. Az effektív mérés mindössze pár másodpercet vesz igénybe, kialakítástól függően, emellett számos minőségi paraméter egy időben történő vizsgálatát is lehetővé teszi.

A kakaóbabok legjelentősebb importőre Európa, illetve a késztermék az az a csokoládé exportőre egyben. A lakosság körében korcsoporttól függetlenül minden fogyasztói rétegben szívesen választják ezt az édességet. Ezt az is jól mutatja, hogy az import mellett nagy volumenben történik a csokoládé értékesítése a tagállamokon belül. A termék leginkább előállított típusai a fehércsokoládé, tejszokoládé, és az étcsokoládé.

A fogyasztók részéről kevésbé, de a gyártói oldalról szükséges a késztermék összetevőinek pontos ismerete. A csokoládé legfontosabb összetevői közé tartozik a kakaó,- a zsír,- és a cukortartalom, melyek aránya jelentős mértékben befolyásolja a végtermék ízét, textúráját és táplálkozási értékét. A csokoládék kémiai összetételének és egyéb fontos tulajdonságainak vizsgálatára alkalmas a közeli infravörös spektroszkópia, amely lehetővé teszi a hatékony termékellenőrzést.

Fő célkitűzésem egy NIR spektroszkópián alapuló módszer fejlesztése volt, amely alkalmazható étcsokoládék cukortartalmának vizsgálata során. Ezen célkitűzés megvalósításához a következő részfeladatok elvégzésére volt szükség:

- NIR spektrális adatbázis kiépítése,
- a cukortartalom és cukorösszetétel meghatározására alkalmazható folyadékkromatográfiás módszer validálása,
- referencia adatbázis kiépítése a minták cukortartalmával összefüggésben,
- különböző kemometriai módszerek alkalmazása az adatok elemzésére és a becslési modell létrehozásához.

1. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

1.1. A csokoládé jelentősége az Európai Unióban

Az Európai Unió a világlegnagyobb kakaóbab importőre és csokoládé exportőre, ezért mind a beérkező alapanyagok, mind a késztermék minősítésének jelentősége van a piac szempontjából. Az Eurostat adatai alapján, 2013-ban 643000 tonna táblás és más formában lévő csokoládét, exportáltak az EU országaiból Európán kívüli országokba. Ez 2023-ban 867000 tonna volt, ami tíz év alatt 35%-os növekedést jelentett (Eurostat, 2024). Világviszonylatban a kakaó 43%-át csokoládéként fogyasztottuk el. 2019-ben a világon Hollandia importálta a legtöbb kakaóbabot 2283 millió dollár értékben, Németország másodikként 1182 millió dollár összegben, Belgium pedig ötödikként 719 millió dollár végösszegben hozta be a csokoládégyártás alapanyagát (Bhutada, 2020). A behozott kakaóbabokból általában valamilyen táblás, illetve egyéb formátumú csokoládé készül. Számos globális kakaó- és csokoládéipari vállalat székhelye Európában található, mint pl. a Barry Callebaut, Cargill, Puratos, Lindt & Sprüngli és Ferrero. A megtermelt csokoládék jelentős részét az európai piacon értékesítik a tagállamok. A világ legnagyobb egy főre jutó csokoládéfogyasztása szintén Európában található. Míg a világ átlagos csokoládéfogyasztása 0,9 kg évente, addig Svájcban 2021-ben ez 11,6 kg volt, Németországban pedig 5,7 kg (CBI, 2021).

1.2. Csokoládé általános jellemzése

A csokoládé az édes ipari termékek egyik jellegzetes képviselője, generációkon keresztül széles körben fogyasztott és kedvelt termék. A vásárlók ezen édességet jellemzően az édes íze, kellemes aromája és állománya miatt fogyasztják előszeretettel (Velciov et al., 2021).

A csokoládégyártás alapvető nyersanyaga a kakaóbab. A gyártási folyamat elemi lépései közé tartozik a fermentálás, szárítás, pörkölés, őrlés, illetve az egyéb alapanyagok hozzáadása. Ezek közül, jellemzően a szárítás utáni lépések nem a termesztés helyszínén történnek. A csokoládégyártás fő alapanyaga a kakaómassza, az egyéb alapanyagok közé tartozik a kakaóvaj, cukor, emulgeálószer, aroma, illetve bizonyos esetekben a tejkomponensek (tej, tejpor). Az utóbbi időben fogyasztói oldalról komoly kíváncsiság merült fel az édességgel kapcsolatban. Ezen igények jellemzően a cukortartalomra, illetve az édesítőszer típusára vonatkoznak. A

fogyasztók igényeire reflektálva megjelentek alternatív édesítősük termékek is a piacon. Ezen édesítő anyagok közé tartozik a fruktóz illetve az egyéb cukorhelyettesítők (Pérez Sira, 2015). Azonban csokoládé édesítésére elsődlegesen alkalmazott cukor a szacharóz (Ibrahim et al., 2020). Az alapanyagok elegyítését követően történik a konsolás és a temperálás (Gutiérrez, 2017). Eltekintve az őrléstől, az imént felsorolt műveletek különböző kémiai folyamatok katalizálásában vesznek részt. Ezen reakciók alakítják ki a legfontosabb íz, illetve aromaprofil jellemzőket (Barišić et al., 2019).

A csokoládégyártás ma már elég széles termékpalettával rendelkezik, a legalapvetőbb csokoládé típusok azonban a fehércsokoládé, a tejcsokoládé és az étcsokoládé. Egy hagyományos étcsokoládé esetén a legmeghatározóbb paraméterek a kakaó,- zsír,- és a cukortartalom.

A Magyar Élelmiszer könyv 1-3-2000/36 számú előírása definiálja az emberi fogyasztásra szánt kakaó- és csokoládéterméket. Ennek alapján az étcsokoládé olyan termék, amely kakaótermékekből és cukrokból készül, legalább 35% összes kakaó szárazanyagot tartalmaz, ebből legalább 18% a kakaóvaj és legalább 14% a zsírmentes kakaó szárazanyag. Az Európai Unióban a csokoládéakra megfogalmazott elvárásokat az Európai Parlament és a Tanács 2000/36/EK irányelve határozza meg. Ennek értelmében az étcsokoládét a következőképpen definiálják: kakaótermékekből, cukrokból és lisztből vagy búza-, rizs- vagy kukoricakeményítőből készült termék, amely legalább 35 % összes kakaó-szárazanyagot tartalmaz, beleértve legalább 18 % kakaóvaját és legalább 14 % zsírmentes kakaó-szárazanyagot, és legfeljebb 8 % lisztet vagy keményítőt tartalmaz. A magyar, illetve az Európai Unió definíciók közötti eltérés a liszt és keményítő alkalmazhatóságából ered, amely elsősorban az Egyesült Királyság nyomására lett része az EU-s irányelveknek (ALBERTS and CIDELL, 2006). A magyar jogszabályok ezen pótlóanyagok használatát tiltják.

A diplomadolgozatomban szempontjából fontos kiemelni a leginkább alkalmazott édesítőszert, a szacharózt. Általánosságban elmondható, hogy az étcsokoládék körülbelül 40-50% cukortartalommal rendelkeznek. Természetesen a nagyobb kakaótartalmú termékeknél ez a százalékos arány kisebb is lehet. A szacharóz nagymértékben hozzájárul az íz kialakításához, és már 1-2%-os eltérése is érzékelhető különbségeket okoz a csokoládé ízében (Pérez Sira, 2015).

1.3. A kakaó és csokoládé cukortartalmát befolyásoló tényezők

Habár a kakaóbab alapvetően tartalmaz cukrokat (mono-, és diszacharidokat), csak viszonylag kis koncentrációban. A kakaóbab cukortartalmát és összetételét a kakaófa genetikája, a termesztés körülményei és a feldolgozás módja is nagymértékben befolyásolja (Sari et al., 2023). Ezzel szemben a csokoládében lévő cukrok mennyiségét elsősorban a gyártási folyamat és a receptúra határozza meg, illetve kis mértéken a kakaó eredeti cukorprofilja is hozzájárul a termék végleges cukortartalmához. A nagy kakaó-tartalommal (>95%) rendelkező étcsokoládék esetében az utóbbinak lehet jelentősége, hiszen a hozzáadott cukor mennyisége kb. 1-4%.

1.3.1. A kakaóbab szénhidrátjai

A fermentáltalan kakaóbab 2-4%-ban tartalmaz kis molekulatömegű szénhidrátokat és azok származékait. Túlnyomó részben szacharóz (90%) található meg a kakaóbabban, kis mennyiségben pedig fruktóz, glükóz, galaktóz, szorbóz, arabinóz, xilóz, mannit és inozit. A kakaóbabban nemcsak kis molekulatömegű szénhidrátok, hanem a növényekre jellemző poliszacharidok is (keményítő 4-6%, cellulóz, pektin 2-3%, stb.) megtalálhatók, amelyek közel 12%-os arányban vannak jelen.

1.3.2. Fermentáció

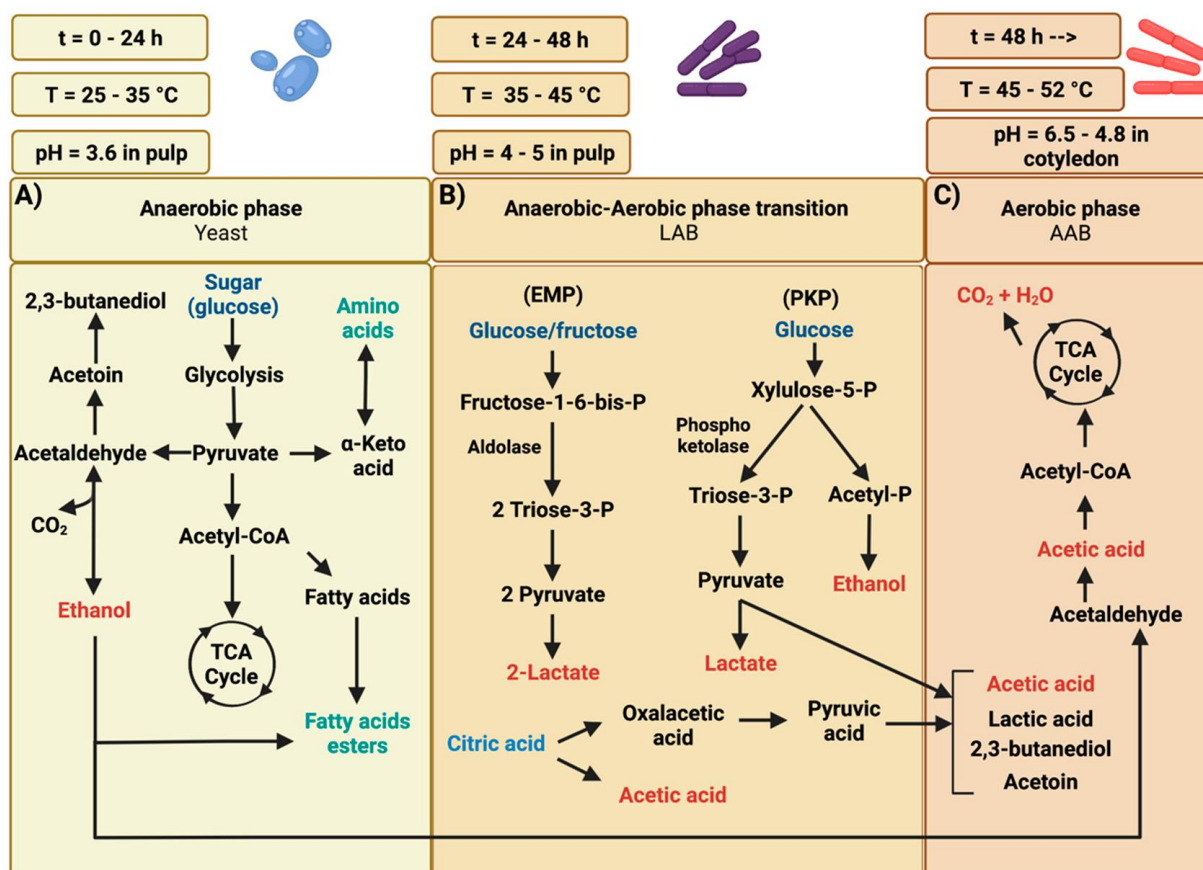
A kakaóbab fermentálását három szakaszra oszthatjuk, ezen szakaszokban különböző baktériumok és élesztőgombák dolgoznak. A fermentáció fő szakaszait és a mikroorganizmusok által cukrokból termelt vegyületeket az 1. ábra szemlélteti. A fermentáció során a kakaóbabban található poliszacharidok nem módosulnak, ellenben a szacharózzal, amely a reakció fő tárgyát képezi (Redgwell and Hansen, 2000). Az élesztőgombák a cukrok egy részét alkohollá alakítják, amely tovább módosul aerob körülmények között ecetsavvá, az ecetsavbaktériumoknak köszönhetően. Az invertáz enzim aktivitásnak hatására pedig a babban található szacharóz fruktozzá és glükózzá hidrolizálódik (Caligiani et al., 2016).

Az első szakaszban (24- 36 óra) az alacsony oxigénnek és az alacsony pH-nak köszönhetően anaerob mikróbák dominálnak. A tejsavbaktériumok jellemzően a második szakaszban, 48 és 96 óra között válnak aktívvá. Az utolsó szakaszban pedig az ecetsav baktériumok fognak

dominálni, tevékenységük következtében az eddig képződött alkoholból ecetsavat állítanak elő a mikroorganizmusok.(Beckett et al., 2017) A fermentációs folyamatot a szárítási művelet zárja le, ennek következtében a nedvességtartalom 6-8%-ra csökken.

1. ábra: A kakaóbabok erjesztésének fő fázisai

(Forrás: Gutiérrez-Ríos et al., 2022)



Sari és munkatársai (2023) különböző indonéziai fermentált kakaóbabokban vizsgálták a fruktóz és a glükóz mennyiségét. Az eredményeik alapján elmondható, hogy a növény fajtaváltozata (Criollo, Forastero, Trinitario), a származási helye és a fermentáció módja egyaránt hatással lehet a kakaóbab cukorösszetételére (1. táblázat).

1. táblázat: Indonézia különböző régióiból származó kakaóbabok glükóz és fruktóz tartalma

(Forrás: Sari et al., 2023)

	Eredet							
	Nyugat-Sulawesi	Nyugat-Szumátra	Aceh	Kelet-Jáva	Kelet-Kalimantan	Bali	Banten	Yogyakarta
Glükóz	0,13 ±	0,35 ±	0,23 ±	0,26 ±	0,37 ±	0,22 ±	0,56 ±	0,00 ±
[mg/g]	0,00	0,01	0,02	0,01	0,02	0,00	0,01	0,00
Fruktóz	0,74 ±	0,98 ±	0,88 ±	1,08 ±	1,17 ±	1,05 ±	1,22 ±	1,16 ±
[mg/g]	0,00	0,00	0,04	0,01	0,02	0,02	0,02	0,01

1.3.3. Szárítás és pörkölés

A Maillard- reakció a kakaóbab feldolgozása során több alkalommal játszódik, le és alakítja át a cukrokat. Először a szárítás során a fermentációból származó redukáló cukrok fognak reakcióba lépni a szabad aminosavakkal (Kongor et al., 2016).

A kakaóbabok végfelhasználás előtt esnek át a pörkölésen, általában 120-140 °C hőmérsékleten végzik a műveletet. Ennek hatására ismét le fog játszódni a Maillard- reakció, amely szintén csökkenti a redukáló cukrok mennyiségét a végtermékben. Emellett a nem redukáló cukrok karamellizációja is bekövetkezik. Kialakul a jellegzetes íz és aroma, illetve csökken a nemkívánatos komponensek száma, ezen műveletek pedig fertőtlenítik is a terméket (Barišić et al., 2019). Az 2. táblázatban különböző területekről származó kakaóbabok cukortartalmának változását szemléltettem pörkölés előtt és pörkölés után (Watson et al., 2013). A glükóz és fruktóz mennyiségének csökkenése figyelhető meg minden esetben. A vizsgált minták szacharóztartalma az Elefántcsontpartról és az Ecuadorból származó kakaóbabok esetén is növekedését mutatott. Ennek oka elsősorban a növény genetikai tulajdonságaira vezethető vissza, mivel a kakaóbabokban található raffinóz, sztachióz, verbaszkóz mennyisége eltérő lehet, amelyek a szacharóz prekurzoraiként működnek a pörkölés során.

Egy korábbi tanulmányban Noor-Soofalina és munkatársai (2009) a pH és a kakaóbabban található polifenolok hatását vizsgálták a kakaóbab minőségével összefüggésben, pörkölés során. Arra következtetésre jutottak, hogy a magas a polifenol tartalommal jellemezhető kakaóbabok esetében a pörkölés végére a glükóz, fruktóz és szacharóz mennyisége csökken. Feltehetően ennek az oka, hogy a szénhidrátok a polifenolokhoz kötődnek, ezáltal a Maillard-reakció során eltérő folyamatok játszódnak le, mint egy kis polifenol koncentrációval

jellemezhető kakaóbab esetén. A kötődés a hidroxil-csoportok között jön létre hidrofíll kölcsönhatások révén.

2. táblázat: A kakaóbab pörkölés hatása a monoszaharidok koncentrációjára

(Forrás: Watson et al., 2013)

Származás	Glükóz (mg/20 g)	Fruktóz (mg/20 g)	Szacharóz (mg/20 g)
GHANA			
Pörköletlen	12,4	83,6	31,6
Pörkölt	0,9	11,9	28,2
ELEFÁNTCSONTPART			
Pörköletlen	15,9	56,0	31,0
Pörkölt	1,0	8,7	40,5
ECUADOR			
Pörköletlen	16,8	34,4	96,6
Pörkölt	2,1	12,1	124,8

1.4. A csokoládé cukortartalma és annak mennyiségi vizsgálata

Alapvetően a csokoládéhoz a gyártás során adnak cukrot jellemzően szacharózt, de az utóbbi években megjelentek olyan termékek, amelyekhez alternatívaként fruktózt, szorbitot, illetve polidexózt adnak (Gutiérrez, 2017). A monoszaharidokat, a glükózt és a fruktózt ritkán használják a csokoládében, mivel nehezen száríthatók. Következésképpen a csokoládében jelen lévő további nedvesség növelné a cukorrészecskék közötti kölcsönhatásokat és növelné a viszkozitást (Afoakwa, 2010). Ahogy korábban már említettem, az csokoládék cukortartalma átlagosan 40-50% között mozog, kivéve a nagy kakaó-tartalmú étcsokoládékat. A kakaótartalom növekedésével a hozzáadott cukor mennyisége csökken. Vannak olyan étcsokoládék, amelyek egyáltalán nem tartalmazzak hozzáadott szacharózt. Ezen termékek cukortartalma a gyártáshoz felhasznált kakaóbabhoz köthető, ezáltal mennyiségük maximum 1-2%.

Az egyszerű cukrok meghatározására hagyományosan titrimetriás módszereket alkalmaztak, mint pl. a Lane-Eynon vagy a Luff-Schoorl módszerek. Ezen kívül alkalmazhatunk spektrofotometriás meghatározásokat is, melyek esetében legtöbbször valamilyen enzimes emésztés után a mintában lévő glükóz vagy fruktóz mennyiségét határozzuk meg (Steegmans et al., 2004). A folyadékkromatográfiás módszerek megjelenésével lehetőség nyílt a különböző cukorkomponensek egyidejű elemzésére, ezáltal napjainkra elsődlegessé vált alkalmazásuk.

Csokoládék cukortartalmának vizsgálatára megjelentek szabványos módszerek is, mint pl. az AOAC 980.13 (AOAC 1980) vagy a japán vámvizsgáló szervek által alkalmazott JCAM No.108-R2 (JCAM, 2007).

Bármilyen módszerről is legyen szó, a minta-előkészítés egyes lépéseit nem lehet elkerülni. A cukrok mennyiségi meghatározását mind a mintában található zsírok és fehérjék befolyásolják, emiatt mintatisztítási eljárásokat kell alkalmazni. Ezeknek kiemelt szerepe van a csokoládék vizsgálatánál nagy zsír és viszonylag nagy fehérjetartalmuk miatt. A csokoládét először szükséges valamilyen módszerrel zsírtalanítani, majd a fehérjéket jellemzően Carrez-oldatok segítségével eltávolítani (Nielsen, 2017).

1.5. Közeli infravörös spektroszkópia alkalmazásának lehetőségei

A közeli infravörös spektroszkópia (NIRS) hatékony eszköz lehet a csokoládék analitikai vizsgálata során, mert gyors, olcsó és vegyszermentes technika. Habár különböző tudományos cikkekben foglalkoztak a csokoládé összetételének vizsgálatával, szélesebb körben vizsgálták a NIRS alkalmazhatóságát a kakaó minősítése során. Ezek közül néhányat az alkalmazott kemometriaival módszerekkel együtt a 3. táblázatban foglaltam össze. Viszonylag kevés tudományos cikk jelent meg az elmúlt 20 évben a csokoládé beltartalmi paramétereinek NIR spektroszkópiával történő vizsgálatával kapcsolatban. Ennek ellenére az ipar számára fontos a téma, amit jól mutat, hogy két analitikai műszerek gyártásával foglalkozó vállalat (Ω Metrohm, Bruker) is fejlesztett speciálisan csokoládék vizsgálatára alkalmas közeli infravörös spektroszkópián alapuló módszereket.

3. táblázat: Közeli infravörös spektroszkópiát alkalmazó publikációk összefoglalása, csokoládé és kakaóbabok vizsgálatára vonatkozóan

Szerző(k)	Mintasám	Mátrix	Komponensek	Adatelőkezelési módszer	Változókiválasztási és regressziós módszerek
HASHIMOTO ET AL., 2018	81	kakaóbab	savtartalom, pH, fehérje, összes fenolos vegyület, zsír, koffein, teobromin, nedvességtartalom	-	VIP iPLSR, PLSR
MOROS ET AL., 2007	36	csokoládé	zsír, szénhidrát, fehérje, kakaó energiatartalom	-	ANN
KRÄHMER ET AL., 2015	48	kakaóbab	zsír, szénhidrát, szerves sav, N-érték, tejsav, ecetsav, szabad aminosavak, koffein, teobromin, fehérje, erjedési idő, nedvességtartalom	MSC, SNC, FD+MSC, FD+SNV	PLSR
OLIVEIRA ET AL., 2023	132	kakaópor	kakaóhéj, fehérje, szénhidrát, rost, zsír, nedvességtartalom	RNV, SNV, MSC, FD, SD, TD, LD, MS, VSN, NS, AsLs, MaS, MiS, Savitzky-Golay	-
SANTOS ET AL., 2021	5	csokoládé	kakaóhéj tartalom	SNV	PLSR
GUNARATNE ET AL., 2019	5	csokoládé	kémiai – fizikai tulajdonságok	-	ANN
DA COSTA FILHO, 2009	64	kakaómassza	szacharóz	GA	PLSR

NIR: közeli infravörös spektroszkópia; PLSR: részleges legkisebb négyzetek elve regresszió; iPLSR: intervallum részleges legkisebb négyzetek elve regresszió; SNV: sor-normalizálás; MSC: átlagos szórás korrekció; ANN: mesterséges neurális háló; RNV: robusztus normál variáns; VIP: változó fontossági projekció; FD: első derivált; SD: második derivált; TD: harmadik derivált; LD: lineáris detrend; MS: medián skálázás; NS: normált skálázás; AsLs: aszimmetrikus legkisebb négyzet; MaS: maximum skálázás; MiS: minimum skálázás; VSN: változó rendezés normalizála

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

2.1. Vizsgált minták

A mérések során 50 elsősorban Európában előállított, kereskedelmi forgalomban kapható étcsokoládét vizsgáltam. A minták kiválasztása során ügyeltem arra, hogy kakaótartalmuk változatos legyen. A minták kakaótartalma 46% és 100% között mozgott. A 4. táblázatban a minták csomagolásán feltüntetett tápértéktáblázatok adatait foglaltam össze.

4. táblázat: Minták átlagos összetétele a tápértéktáblázatok alapján

(Forrás: Saját szerkesztés a csomagolásokon feltüntetett adatok alapján)

	Energia [kJ]	Zsír [g/100g]	Telített zsírsavak [g/100g]	Szénhidrát [g/100g]	Cukor [g/100g]	Fehérje [g/100g]	Só [g/100g]	Kakaó tartalom [%]
Átlag	2415	45	27	30	25	9	0	74
Minimum	2020	31	11,7	8	0,5	4,6	0	46
Maximum	2762	61	39	55,4	53,2	14	0,3	100

2.2. Vegyszerek és reagensek

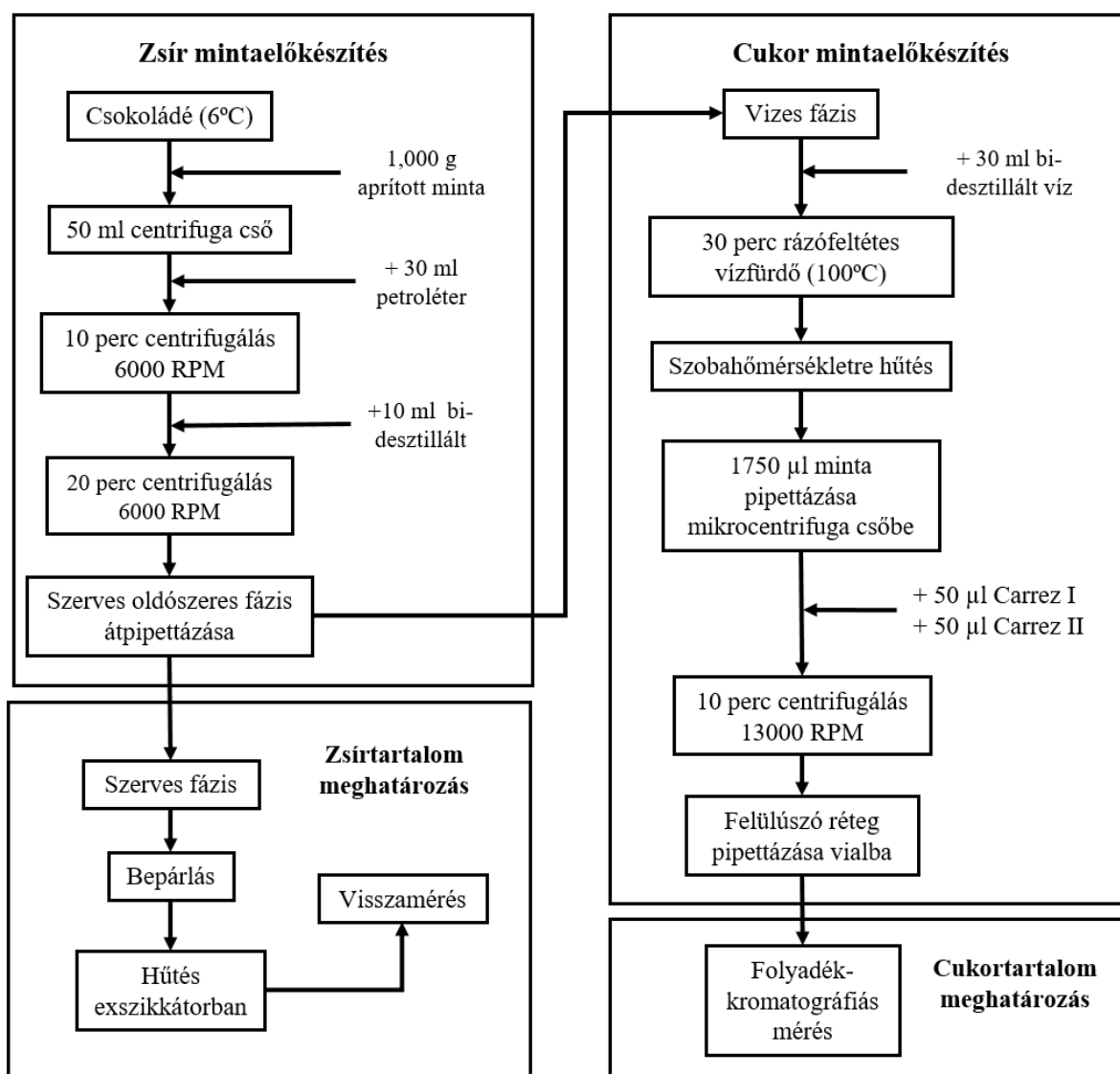
Az étcsokoládék zsírtalanításához/zsirtartalmának meghatározáshoz analitikai tisztaságú petrolétert (40-60°C forráspontú) (Chem-Lab NV, Zedelgem, Belgium) használtam. A cukortartalom meghatározásnál a további mintatisztítási lépésekhez pedig Carrez I (cink-acetát-dihidrátot) (VWR, Leuven, Belgium) és Carrez II (kálium-ferrocianidot) (Reanal, Budapest, Magyarország) oldatokat. A kromatográfiás elválasztásnál az eluens egyik alkotója acetonitril (VWR International S.A.S., Rosny-sous-Bois, Franciaország) volt. A minták cukorprofiljának vizsgálatához a következő sztenderdeket (az összes standard a Sigma-Aldrich gyártótól került beszerzésre) használtam: fruktóz (99%) glükóz ($\geq 99,5\%$) szacharóz ($\geq 99,5\%$) laktóz és maltóz ($\geq 99,5\%$) használtam fel.

2.3. Mintaelőkészítési módszer

Az általam alapul vett mintaelőkészítési módszer a japán vámellenőrzésnél használt szabványos módszer (JCAM No. 112-R3), melyet a teobromin és koffein meghatározására használnak. Ennek oka, hogy diplomamunkám egy nagyobb kutatás része, amelyben egy integrált mintaelőkészítési módszer kidolgozása a cél, étcsokoládék zsír-, teobromin- és koffeintartalmának, valamint cukortartalmának vizsgálatára. Dolgozatomban a mintaelőkészítési módszer alkalmazhatóságát is vizsgáltam étcsokoládék cukorprofiljának meghatározására.

A minta-előkészítés során alkalmazott lépéseket a 2. ábrán foglaltam össze. Első lépésében a zsírtartalom meghatározáshoz zsírtalanítani kellett a mintát, habár a zsírtartalom meghatározás nem kapcsolódik a dolgozatom témájához, befolyásolja a mintaelőkészítést, így az általam készített folyamatábrán is feltüntettem. A minták homogenizálásához egy VELD kémcsőkeverőt (VELD SCIENTIFICA, Usmate Velate, Olaszország), a centrifugálásához egy MPW-260R centrifugát (MPW MED. INSTRUMENTS, Varsó, Lengyelország), a hõntartáshoz és rázathoz pedig egy FALC WB-MF24 (FALC INSTRUMENTS, Castel Rozzone, Olaszország) vízfürdõt használtam.

2. ábra: Mintaelőkészítés folyamatábrája



2.4. Cukortartalom meghatározása folyadékkromatográfiás módszerrel

A folyadékkromatográfiás mérést egy Agilent 1200 (Agilent Technologies Santa Carla California, USA) HPLC rendszerrel végeztem el. A vizsgált komponensek elválasztásához egy Phenomenex, Luna Omega SUGAR HILIC kolonnát használtam (Phenomenex, Torrance, Kalifornia, USA; 250x4,6 mm; 3 µm). Izokratikus elúciót alkalmaztam acetonitril/víz (75/25 V/V%) mozgófázissal. A detektálást törésmutató detektorral végeztem. A detektor és a cella hőmérséklete 40°C-ra volt beállítva. Az áramlási sebesség 1 ml/perc volt, az injektált térfogat pedig 10 µl. A vizsgált cukrok a fruktóz, glükóz, szacharóz, laktóz és a maltóz voltak. Külső

kalibrációval dolgoztam a 0,25-10 mg/ml koncentráció tartományban. A kromatogramok kiértékeléséhez a ChemStation szoftvert (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) használtam.

2.5. Közeli infravörös spektrumok rögzítése

Az étcsokoládék spektrális adatainak rögzítését egy Bruker MPATM FT-NIR többfunkciós analizátor (Bruker, Ettlingen, Németország) végeztem el. A spektrumok rögzítéséhez diffúz reflexiós mérési módot alkalmaztam, amelyhez a következő paramétereket állítottam be:

- tartomány: 12500-3800 cm⁻¹
- detektor: ólom-szulfid (PbS)
- optikai felbontás: 16 cm⁻¹
- alspektrumok száma: 32
- adatfelvételi sebesség: 10 kHz
- szoftver: OPUS 7.2 (Bruker, Ettlingen, Németország)

Forgatható kvarc küvettát (Ø 85 mm) használtam a homogenitás növelésének érdekében, amelybe körülbelül 50 g mintát mértem be. Az étcsokoládé mintákat kézzel kisebb darabokra tördeltem. Minden esetben három párhuzamos mérést végeztem el, melyek között átkevertem a mintákat.

2.6. Folyadékkromatográfiás módszer validálása

A cukrok kalibrációs görbéinek linearitását standard oldatok injektálásával ellenőriztem. A vizsgált koncentrációk a következők voltak: 0,5-1,0; 1,0-2,0; 2,0-5,0; 5,0-10,0; 10,0-40,0 mg/ml. A standard oldatok koncentrációjának meghatározásakor figyelembe vettem a mintáknál mért koncentrációkat. A visszanyerés vizsgálatot minden cukor esetén, három szinten végeztem el. Az addicionálást 1,000 g mintára végeztem el (addíció szintjei: 25 – 50 – 75 mg). A kimutatási határt (LOD) és a meghatározási határt (LOQ) legkisebb koncentrációjú kalibrációs oldat kromatográfiás adatai alapján, a következőképpen számoltam:

1. egyenlet: Kimutatási határ (LOD) számításának képlete

$$\frac{3 * \text{koncentráció}}{\text{jel/ zaj}}$$

2. egyenlet: Meghatározási határt (LOQ) számításának képlete

$$\frac{10 * \text{koncentráció}}{\text{jel/zaj}}$$

2.7. Spektrális adatok elemzése

2.7.1. Adat-előkezelési módszerek

A spektrális modellek létrehozásának első lépéseként célszerű valamilyen adat-előkezelési módszert alkalmazni, mert a spektrális adatkészletünk hordozhat kémiai összetételtől független információkat, amelyek modellünket torzítanak. Ezen kívül, alkalmazásukkal kiemelhetők a releváns különbségek, ezáltal fontos spektrális információk tárhatók fel (Rinnan et al., 2009). Ilyen matematikai transzformációk pl. a különböző szóráskorrekciós módszerek. Az átlagos szórás korrekció (MSC) a leggyakrabban alkalmazott adat-előkezelési eljárás. Diffúz-reflexiós spektroszkópia esetén eltávolítja az additív és multiplikatív hatásokat (Shiroma and Rodriguez-Saona, 2009). A másik gyakran alkalmazott módszer a sor-normalizálás (SNV). A módszer soronként centrálja a spektrális adatokat, amelynek eredménye az alapvonaleltolódás korrekciója. Emellett másik eredményeként csökkenti az eltéréseket, amely az optikai úthosszból ered, tehát skálázza az adatokat. Használhatók még különböző deriválási módszerek a különböző kémiai információk kinyerése érdekében. Alkalmazásukkal javítható a felbontás és az alapvonal eltolódásból adódó eltérések is csökkenthetők. A két leggyakrabban alkalmazott deriválási eljárás FT-NIR spektroszkópia esetén az első (FD) és második (SD) derivált. Azonban figyelembe kell vennünk, hogy hatásukra a zaj mértéke nőni fog. A deriválási és más adat-előkezelési módszerek kombinálásával is képesek vagyunk javítani matematikai modelljeink teljesítményét (Rinnan et al., 2009).

Munkám során az előzőekben bemutatott adat-előkezelési módszereket alkalmaztam, a szemcseméret eltéréséből adódó fizikai különbségek csökkentése és a kémiai információk feltárása érdekében.

2.7.2. Főkomponens elemzés

A főkomponens elemzés (PCA) egy adatredukciós eljárás, amely az adatkészletben rejlő mintázatok felismerésére, illetve a kiugró értékek vizsgálatára alkalmas (Wold et al., 1987). Az elemzés segítségével vizuálisan megjeleníthető a minták és a változók közötti kapcsolat. A módszer alapelve a „látens” változók kiszámítása, amelyet az eredeti változók új lineáris kombinálásával hozunk létre. Más megfogalmazásban az eredeti adatmátrixunk felbontható két mátrix szorzatára: a főkomponens és a főkomponens-együtthatóra. Ezen mátrixok ortonormált kapcsolatban állnak egymással. A főkomponens mátrix tartalmazza a legtöbb információt az eredeti adathalmazból (Bro et al., 2008).

A főkomponens elemzést az esetleges spektrális kiesők meghatározására és az adatkészletben rejlő mintázatok feltárása használtam. Az elemzést 50 darab mintára futtatam le. A kémiai információk szempontjából kevésbé releváns régiókat levágtam, amely a $12500\text{-}9000\text{ cm}^{-1}$ (a minták színe által erősen befolyásolt) tartományt jelentette. A spektrális kiesők meghatározásához a Hotelling-féle T^2 próbát és az F-reziduális értékeket használtam. A modellek validálásához random hét-szegmenses keresztellenőrzést alkalmaztam. A The Unscrambler X 10.4 szoftver (CAMO, Oslo, Norvégia) segítségével végeztem el a főkomponens-elemzést. A szemcseméretből adódó alapvonalettolódás korrigálására átlagos szórás korrekciót (MSC) és sor-normalizálást (SNV) alkalmaztam.

2.7.3. Változó kiválasztási módszer

Becslési függvények esetén szükséges a modell egyszerűsítése, predikciós képességének növelése, illetve a számítási kapacitások csökkentése. Erre kiváló megoldást nyújtanak a változókiválasztási módszerek. Alkalmazásuk célja, hogy a regresszió során csak a legfontosabb, a vizsgált paraméterekkel összefüggésbe hozható változókat használjuk a modellekben. Ilyen módszerek közé tartoznak az általam is alkalmazottak, mint a genetikus algoritmus (GA), az intervallum részleges legkisebb négyzetek elve regresszió (iPLS) és a rekurzív PLSR. A változókiválasztási módszereket a MATLAB R2019b (Mathworks Inc., Massachusetts, USA) szoftverben, a PLS_TOOLBOX v. 9.3 (Eigenvector Technologies, Research, Inc., USA) alkalmazás segítségével futtattam le. A GA esetében az ablakszélességet 30-ra és 50-re állítottam be, az iPLS esetén pedig 10-, 20- és 40-szegmensre osztottam fel a spektrális tartományt.

2.7.4. PLS regresszió

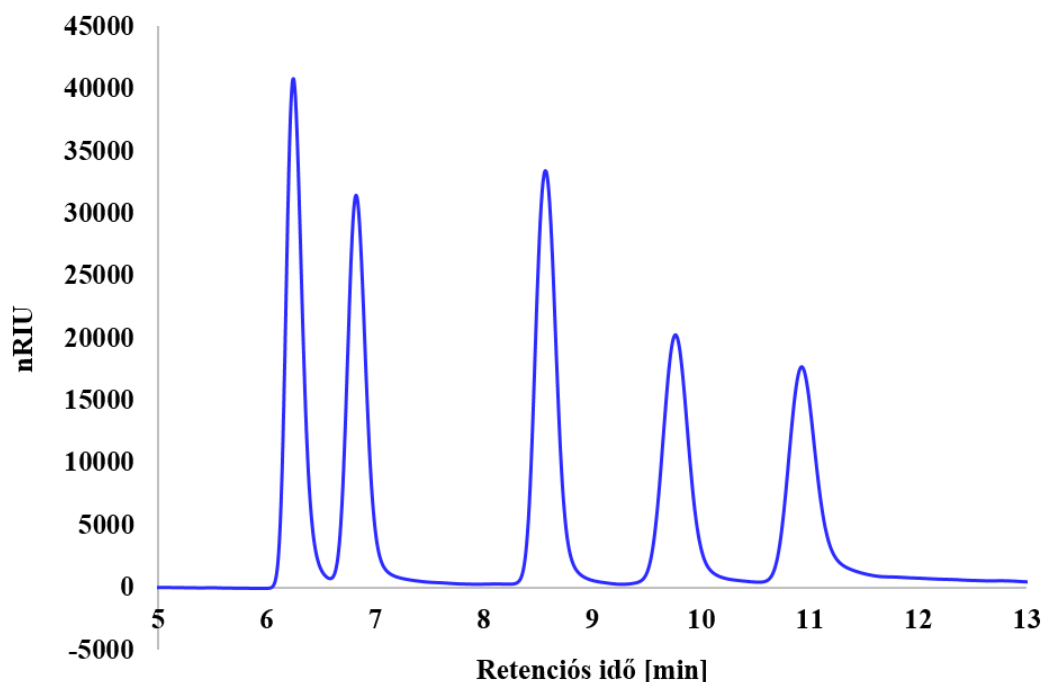
A parciális legkisebb-négyzetek elve regresszió (PLSR) egy többváltozós lineáris regressziós módszer. Segítségével képesek vagyunk kezelni olyan adathalmazokat, amelyekben a változók száma sokkal nagyobb, mint a minták száma (Andersen and Bro, 2010). A PLS regresszió célja, hogy a spektrális adatok és a referencia adatok közötti kapcsolatot modellezze úgy, hogy az előbbieket dimenzióját csökkenti, miközben megőrzi a lehető legtöbb információt. Ez különösen hasznos nagy adathalmazok esetén, ahol a hagyományos regressziós módszerek nem működnek jól. A referencia és a spektrális adatok közti összefüggés feltárására a MATLAB R2019b (Mathworks Inc., Massachusetts, USA) szoftvert használtam, melyben a PLS_TOOLBOX v. 9.3 (Eigenvector Technologies, Research, Inc., USA) modul segítségével futtattam le a PLS regressziót. Random hét-szegmenses keresztellenőrzést alkalmaztam a modellek validálására. A szegmensek meghatározására a szakirodalom alapvetően azt ajánlja, hogy szegmenseink öt, illetve tíz közé essenek. A leggyakrabban alkalmazott keresztellenőrzési módszer hét szegmenses. A minták csoportokba való sorolására több lehetőség is rendelkezésünkre áll, a leginkább alkalmazott kiválasztási módszer a szisztematikus, illetve a véletlenszerű (random) (Bro et al., 2008). A kapott modellek teljesítményének értékeléséhez különböző matematikai-statisztikai értékeket vettem figyelembe. Ezek közé tartozik a determinációs együttható (R^2), a keresztellenőrzés determinációs együtthatója (R^2_{CV}), a kalibráció átlagos négyzetes hibájának négyzetgyöke (RMSEC), és a keresztellenőrzés átlagos négyzetes hibájának négyzetgyöke (RMSECV), ill. a látens változók száma (LV).

3. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

3.1. Folyadékkromatográfiás módszer validálása

A módszert részlegesen validáltam, amely során meghatároztam a lineáris tartományt, a kimutatási határt (LOD), a meghatározási határt (LOQ) és a szacharóz visszanyerését. A kromatográfiás módszer a beállított paraméterek mellett alkalmas fruktóz, glükóz, szacharóz, maltóz és laktóz alapvonal szintű elválasztására. A 3. ábrán a cukor sztenderdek kromatogramja látható, ahol a szénhidrátok detektálásának sorrendje és retenciós ideje a következő volt: fruktóz (6,3 perc), glükóz (6,9 perc), szacharóz (8,6 perc), maltóz (9,8 perc) és laktóz (11,0 perc).

3. ábra: Az 5 mg/ml koncentrációjú kalibrációs pont kromatogramja



Az eredményeket csak szacharózra vonatkozóan mutatom be, mert a vizsgált étcsokoládék nyolc minta kivételével csak szacharózt tartalmaztak. Ettől függetlenül a módszer alkalmazható lehet pl. tejcsokoládék laktóztartalmának vizsgálata során, azonban ennek bizonyítására további méréseket kellene elvégezni.

A csúcs alatti terület és a koncentráció között lineáris kapcsolat áll fent a vizsgált mérési tartományban (0,5-40 mg/ml). Az LOD és az LOQ értékét a jel/zaj adatok felhasználásával adtam meg a legkisebb koncentrációhoz tartozó kromatográfiás adatok segítségével. Az eredményeket az 5. táblázatban foglaltam össze. A visszanyerés vizsgálat során a bemérést

követően három szinten addicionáltam az egyik étcsokoládé mintát (n=3). A kapott eredmények minden esetben az elfogadási határon belül (70-120%) voltak.

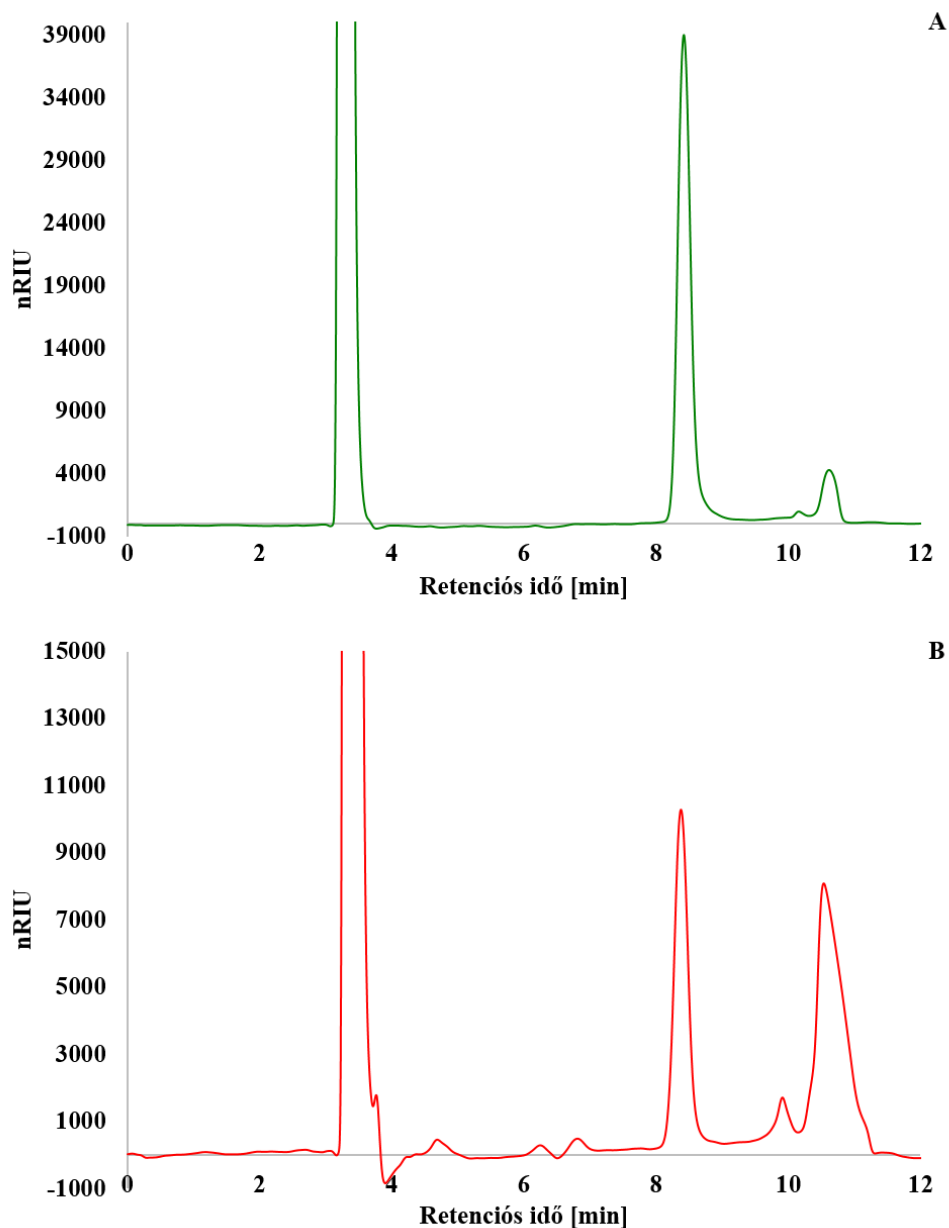
5. táblázat: A validálás eredménye

ÉRVÉNYESÍTÉSI PARAMÉTER		SZACHARÓZ	
Retenciós idő (perc)			
LOD [mg/ml]		0,12	
LOQ [mg/ml]		0,39	
Lineáris tartomány		0,5-40 mg/ml	
Egyenes egyenlete		y=89174x	
Regressziós koefficiens (R ²)		0,9991	
SZTENDERD ADDÍCIÓ			
	Átlag ± SD	RSD%	Visszanyerés %
1. szint	47,55 ± 0,36	0,75	100,14 ± 0,88
2. szint	72,51 ± 3,55	4,89	99,90 ± 7,62
3. szint	95,85 ± 2,73	2,85	96,38 ± 2,81

3.2. Referencia adatok értékelése

Az étcsokoládék esetében a kakaótartalom növekedésével a hozzáadott cukor mennyisége csökken. A vizsgált minták kakaótartalma a csomagoláson feltüntetett információk alapján 46-100% között volt. A csokoládék eltérő összetétele miatt a mért szacharóz értékek is széles tartományt fedtek le. A minták szacharóz tartalma 0,55 és 46,6 g/100 g között változott. A minták között volt 3 db 100% kakaótartalmú étcsokoládé, amelyekben a szacharóz koncentrációja kimutatási határ alá esett. A kromatográfias mérések eredménye alapján elmondható, hogy az 50 mintából fruktózt csak nyolc, glükózt pedig hét esetben lehetett meghatározni. A fruktóz koncentrációja 0,08 és 0,68 g/100 g között, a glükóze pedig 0,11 és 0,97 g/100 g között volt. Azok a minták, amelyek tartalmaztak fruktózt és glükózt magas kakaótartalommal rendelkeztek (>99%). Ez alól kivétel 3 db minta, amelyből kettő tartalmazott kókuszvirág cukrot, amelyben ezen monoszacharidok természetes módon megtalálhatóak (Wrage et al., 2019). A harmadik esetében információ hiányában nem tudtam meghatározni a két cukor jelenlétének okát. A 4. ábrán egy kisebb és egy nagyobb kakaótartalmú minta kromatogramja látható. Utóbbinál megfigyelhető a fruktóz és a glükóz csúcs is a szacharóz mellett. A szacharóz csúcs után eluálódó komponensek minden minta esetében megfigyelhetők voltak, azonban sem elválasztani, sem azonosítani nem sikerült azokat a rendelkezésre álló sztenderdek (cellobióz, melibióz, trehalóz) segítségével.

4. ábra: Csokoládé minták HPLC-RID kromatogramjai: A) 47% kakaótartalmú minta; B) 100% kakaótartalmú minta

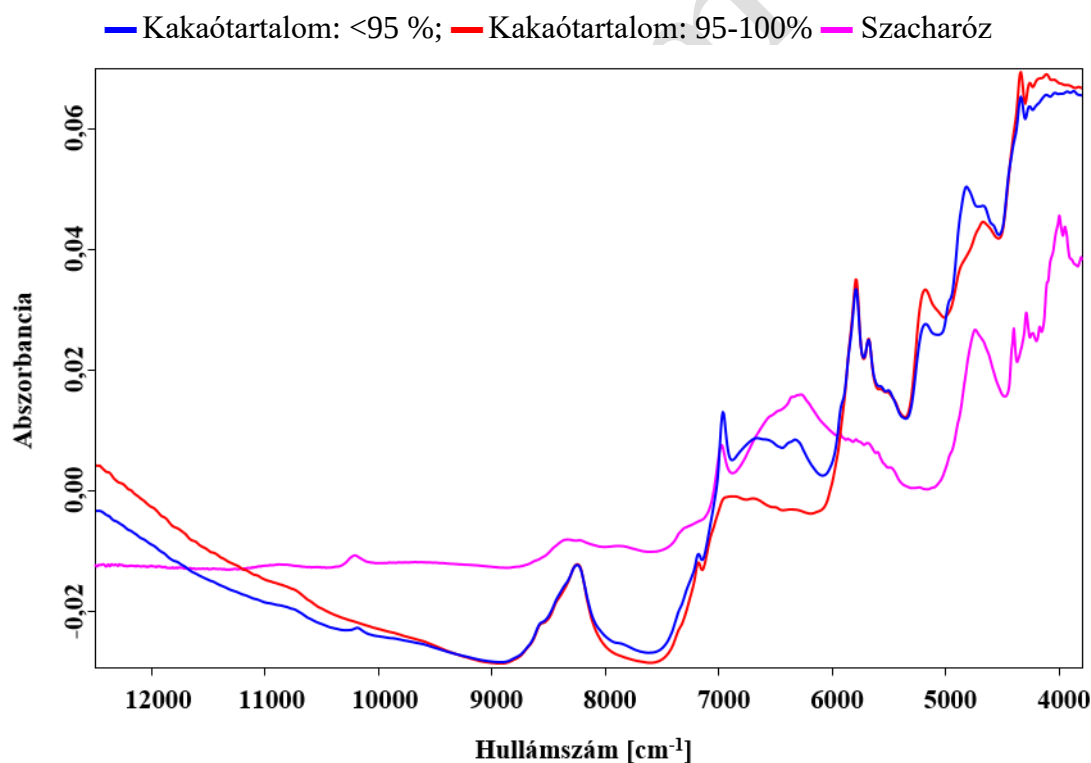


3.3. Spektrális adatok kiértékelése

Általánosságban a vizsgált csokoládé minták NIR spektrumai hasonló karakterisztikával jellemezhetők, azonban jelentős eltérések figyelhetők meg a szacharóz koncentrációjának csökkenésével. Az 5. ábrán a szacharóz, illetve az étcsokoládék SNV adat-előkezelte átlagolt spektrumait mutatom be. Kék színnel a 95% alatti kakaótartalommal rendelkező minták átlagolt spektruma, pirossal pedig a 95 és 100% kakaótartalomú minták átlagolt spektruma látható. Az

ábrán a szacharóz spektrumát (rózsaszín) is jelöltem, amellyel jól szemléltethetők azok az spektrális tartományok, ahol elnyelés tapasztalható. A spektrumok bizonyos régiói számottevő különbséget mutattak a vizuális értékelésük alapján. A legnagyobb kakaótartalommal (95-100%) rendelkező minták esetén megfigyelhető a magasabb abszorbancia érték a 12500-9000 cm^{-1} régióban. Ennek oka, hogy ezek színe sötétebb, mint az alacsony kakaótartalommal (<95 %) rendelkezőké. Emellett 11200 cm^{-1} körül mind a szacharóz, mind a nagyobb szacharóztartalommal jellemezhető minták esetében megfigyelhető egy kisebb csúcs. Ezeken kívül, a 6944 cm^{-1} körüli hullámszámtartományban, illetve 4970 cm^{-1} -nél figyelhető meg jelentős eltérés. A különbség abból adódik, hogy a nagy kakaótartalmú minták nem tartalmaztak szacharózt. Hasonló megállapításra jutottak Santos és munkatársai (2021). is különböző csokoládék vizsgálata során. Ezt alátámasztja a szacharóz spektruma is, hiszen ezekben a régiókban domináns az elnyelése (6. táblázat).

5. ábra: SNV adat-előkezelt NIR spektrumátlagok és a szacharóz spektruma



A szacharóz molekuláris rezgéseivel összefüggő abszorpciós sávokat táblázat (6. táblázat) formájában is összefoglaltam, melyeket korábbi tudományos publikációk alapján gyűjtöttem össze.

6. táblázat: A szacharóz jellegzetes abszorpciós sávjai a közeli infravörös tartományban

Szerző(k)	Hullámszám [cm ⁻¹]	Rezgés
DA COSTA FILHO (2009)	7289	C–H vegyértékrezgések kombinációja
	6959	C–H vegyértékrezgések kombinációja
	6878	O–H és O–H vegyértékrezgések kombinációja
	6536	C–H vegyértékrezgések 1. felhangja
	5917	C–H vegyértékrezgések 1. felhangja
	5767	C–H vegyértékrezgések 1. felhangja
	5537	C–H és O–H vegyértékrezgések kombinációjának 2. felhangja
	4970	O–H vegyértékrezgés és a O–H–O deformációs rezgés kombinációja
	4801	O–H vegyértékrezgés és a O–H–O deformációs rezgés kombinációja
SANTOS (2021)	6959	C–H vegyértékrezgések kombinációja
	6653	C–H vegyértékrezgések 1. felhangja
	6325	O–H vegyértékrezgés és a O–H–O deformációs rezgés kombinációja
	4817	O–H vegyértékrezgés és a O–H–O deformációs rezgés kombinációja

3.4. Főkomponens elemzés eredménye

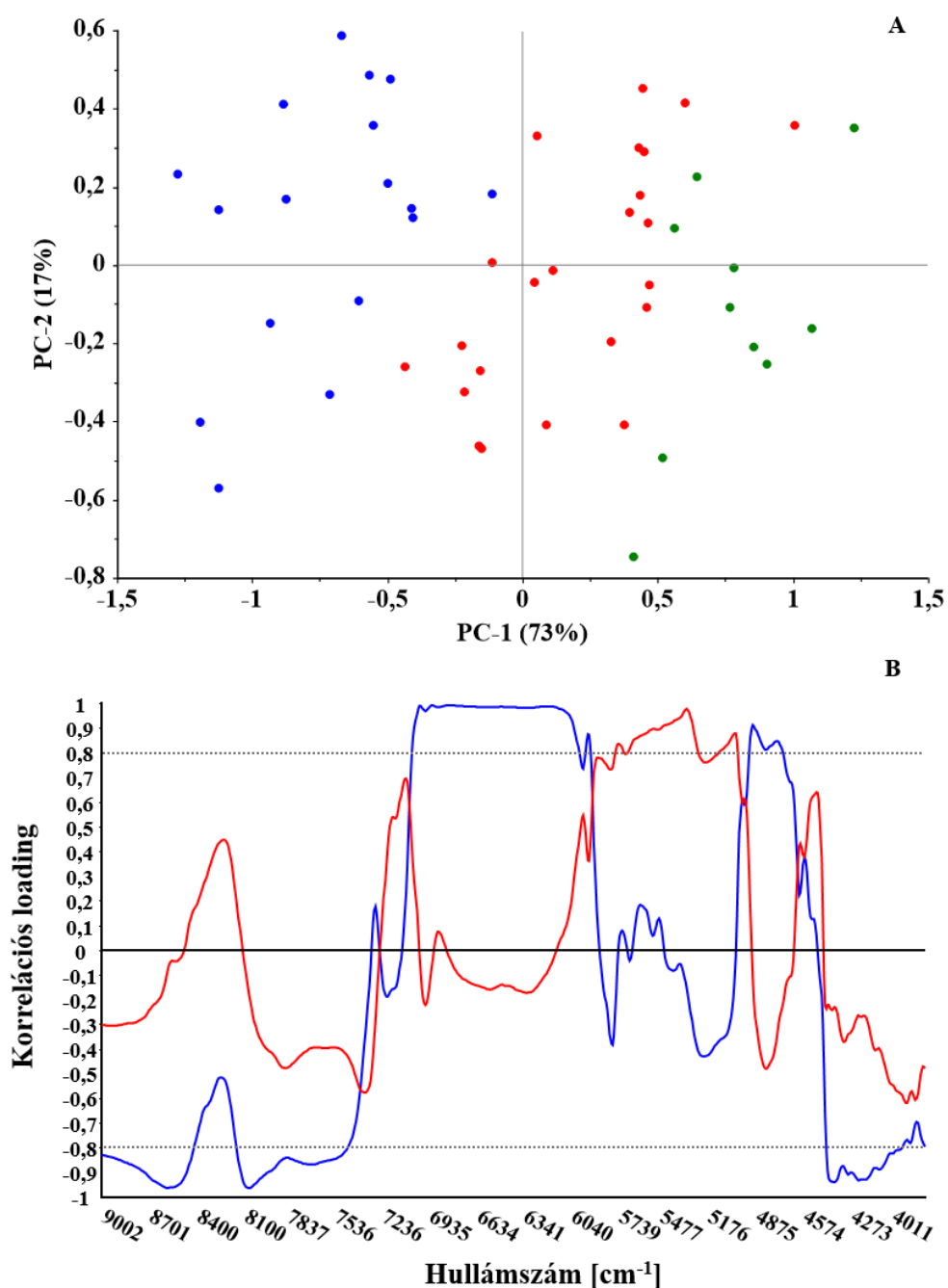
A PCA eredménye alapján az adatkészlet varianciáját az első két főkomponens (PC) 90%-ban magyarázza. Valamivel kisebb hatása van a még a PC3-nak (7%) is, azonban a cukortartalommal összefüggésben nincs nagy relevanciája, ezért erre nem térek ki részletesebben. A PCA scores plot (6. ábra) eredményén egyértelműen látszik, hogy MSC adat-előkezelést követően a minták a cukortartalom alapján jól elkülöníthető csoportokat alkottak. Erre leginkább az első főkomponensnek van hatása. A mintákat a The Unscrambler X 10.4 szoftver (CAMO, Oslo, Norvégia) automatikusan három csoportba sorolta a cukortartalom alapján. Az alacsonyabb cukortartalmú minták (0-15,517 g/100 g) a PC1 (73%) pozitív tartományába estek, míg a nagyobb cukortartalmú minták (31,033-46,55 g/100 g) a negatív tartományba. A közepes cukortartalommal rendelkező minták (15,517-31,033 g/100 g) pedig a

pozitív és a negatív tartományban egyaránt megfigyelhetők. A PC2 (17%) ezzel szemben nem áll szoros összefüggésben a minták szacharóztartalmával, amely a minták jelöléséből is egyértelműen látszik.

6. ábra: Főkomponens elemzés fontosabb eredményei

A) Score ábra. A minták a szacharóz koncentrációja alapján vannak jelölve: ● 0-15,517 g/100 g; ● 15,517-31,033 g/100 g; ● 31,033-46,55 g/100 g.

B) Korrelációs loading-ok. — PC1; — PC2



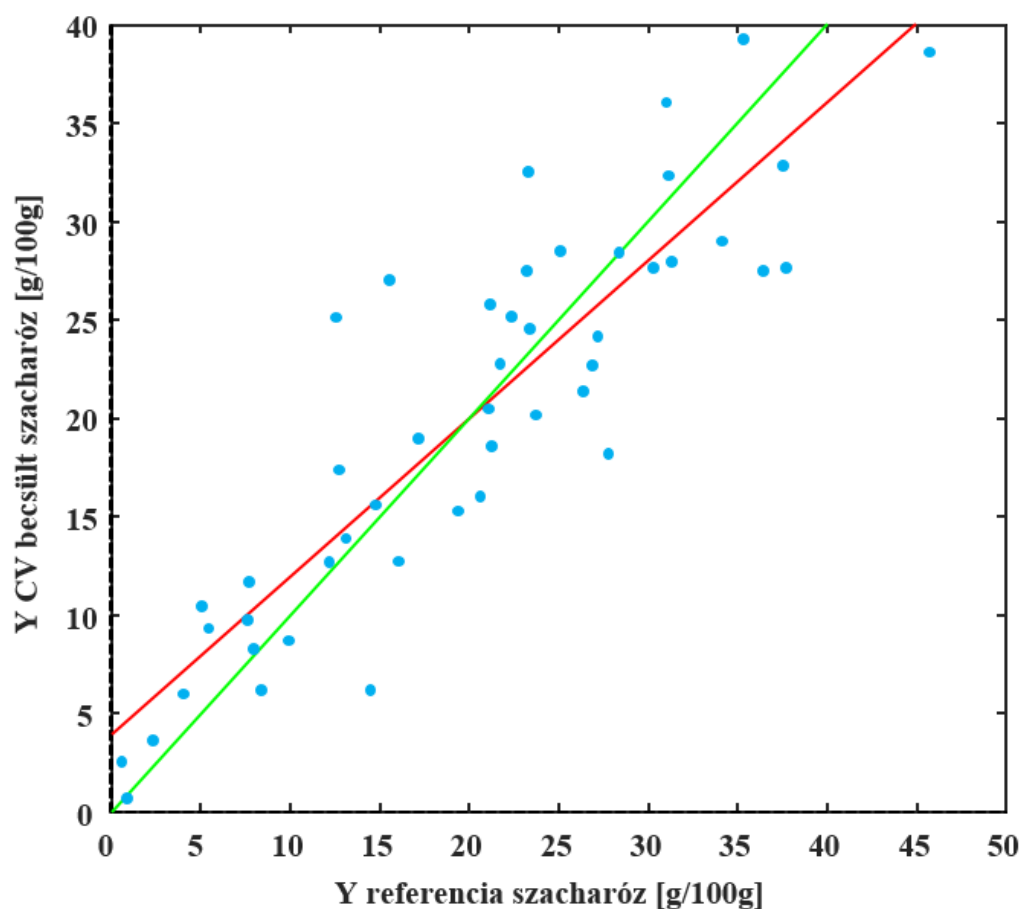
A 6.B ábra a PCA után kapott korrelációs loadingokat mutatja be a PC1 és PC2 esetében. Ezek segítségével meg tudjuk határozni azokat a spektrális tartományokat, amelyek a leginkább befolyásolják a minták pozícióját a score ábrán. Azok a hullámszámok bírnak nagy jelentőséggel, melyek esetében a korrelációs loadingok értéke nagyobb mint 0,8 (erős pozitív korreláció) vagy kisebb, mint -0,8 (erős negatív korreláció). Ennek értelmében a 9000-7500 cm^{-1} , a 7000-6000 cm^{-1} , az 5800-5000 cm^{-1} , a 4900-4600 cm^{-1} és a 4300-4000 cm^{-1} spektrális régiók a legjelentősebbek ebből a szempontból. Ezek elsősorban a mintákban található lipidekkel, cukrokkal, fehérjékkel és alkaloidokkal hozhatók összefüggésbe (Álvarez et al., 2012; Santos et al., 2021).

3.5. Részleges legkisebb négyzetek elve regresszió (PLSR)

A modellezés során 47 darab minta spektrális és referencia adatát használtam fel. A referencia adatok értékelése során lefuttattam a Kolmogorov-Smirnov tesztet, amely szerint az adatok eloszlása normálisnak mondható ($p > 0,05$). Három mintát kizártam a kiértékelésből, mivel minden esetben torzították a modelleket. Ez a három minta rendelkezett a legmagasabb kakaótartalommal, illetve szacharóz tartalmuk a HPLC-s módszer kimutatási határa alá esett. A modelleket legfeljebb 10 látens változóval számoltam ki.

Először a modellt az adat-előkezelés nélküli spektrális adatok felhasználásával hoztam létre. A mérési tartomány 0,55-46,55 g/100 g volt. A 7.ábrán látható a nyers adatokon lefutott PLS regresszió eredménye, amely alapján megfigyelhető, hogy bizonyos minták távol helyezkedtek el a tökéletes illeszkedést leíró egyenestől ($R^2=1$; zöld egyenes). Ezáltal a szacharóz mennyiségi becslése viszonylag nagy hibával volt terhelt. A determinációs együttható értéke 0,92, az átlagos négyzetes hiba értéke pedig 3,41 g/100 g volt. A kereszt-ellenőrzésre vonatkozó determinációs együttható értéke 0,89 a kereszt-ellenőrzés négyzetes hibája pedig 4,07 g/100 g.

7. ábra: Az eredeti spektrális adatokon futtatott PLS regresszió eredménye



A PLS regresszió statisztikai paramétereit, nem ítéltam megfelelőnek (7. táblázat), ezért a PLS regresszió eredményeit további adat-előkezelési módszerek (SNV, MSC, FD, SD) segítségével próbáltam meg javítani. Ennek eredményeit a 7. táblázatban foglaltam össze, melyek alapján látható, hogy a különböző adat-előkezelési módszerek alkalmazása hatásos volt. Az alkalmazott matematikai transzformációs módszerek szinte minden esetben javították az eredeti PLS modellt. Kivételt képezett az SD adat-előkezelés, amelynél a R^2 értékei csökkentek és az átlagos hiba értékei is növekedést mutattak az eredeti modellhez képest.

7. táblázat: Az eredeti és az adat-előkezelés után kapott PLSR főbb statisztikai paramétereit

Adat-előkezelési módszer	LVs	R^2	R^2_{cv}	RMSE [g/100g]	RMSECV [g/100g]
PLSR	5	0,92	0,89	3,41	4,07
MSC	3	0,93	0,91	3,27	3,60
SNV	3	0,93	0,91	3,26	3,66
FD	2	0,93	0,91	3,11	3,56
SD	4	0,89	0,84	3,62	4,49

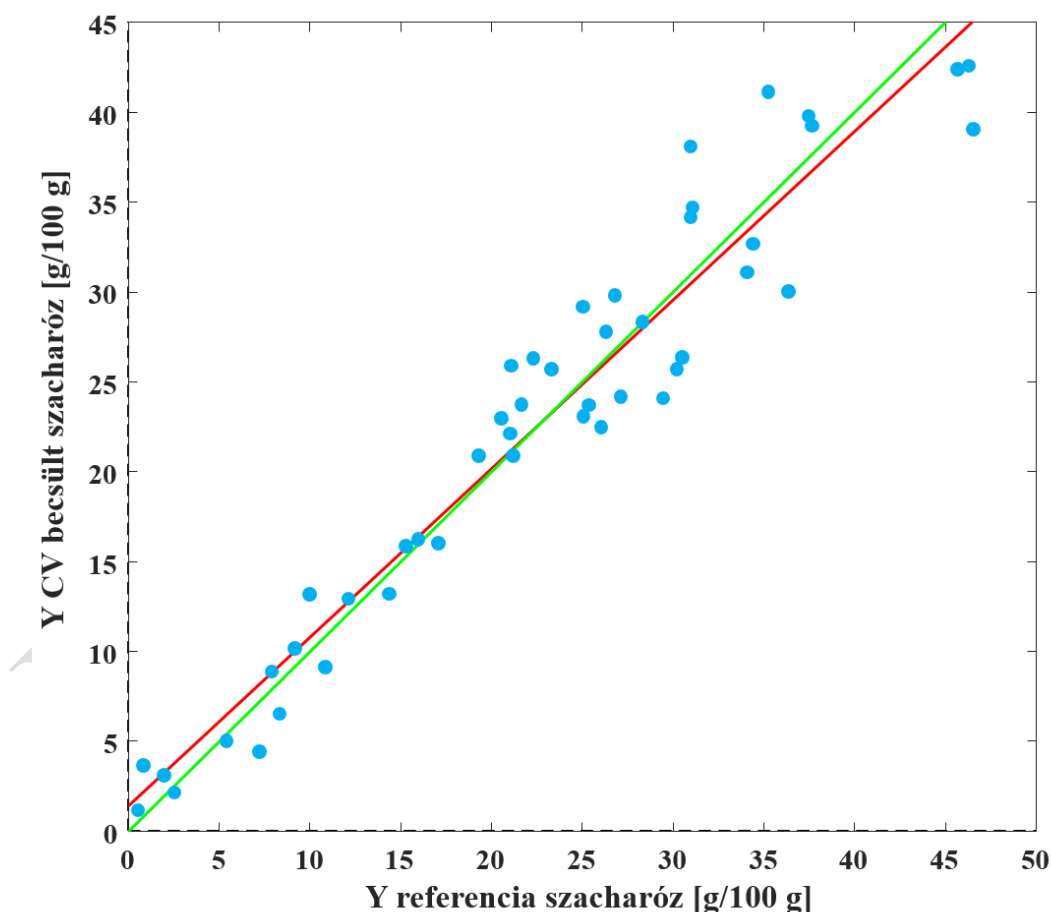
A modellek további optimalizálása érdekében különböző változókiválasztási módszereket is alkalmaztam az adat-előkezelési eljárásokkal kombinálva. Ezeknek a legfontosabb statisztikai paramétereit a 8. táblázat mutatja be.

8. táblázat: A PLS regressziós modellek fontosabb teljesítményjellemzői

MEGNEVEZÉS	LV _s	R ²	R ² _{CV}	RMSE [g/100g]	RMSECV [g/100g]
PLS	5	0,92	0,89	3,41	4,07
rPLS	6	0,95	0,92	2,65	3,56
iPLS 10	6	0,94	0,92	2,82	3,41
iPLS 20	6	0,96	0,93	2,50	3,19
iPLS 40	6	0,96	0,93	2,50	3,19
GA 30	4	0,92	0,90	3,44	3,90
GA 50	4	0,92	0,90	3,41	3,83
MSC	3	0,93	0,91	3,27	3,60
MSC rPLS	3	0,93	0,91	3,28	3,60
MSC iPLS 10	4	0,89	0,85	4,06	4,62
MSC iPLS 20	4	0,93	0,91	3,24	3,74
MSC iPLS 40	5	0,95	0,93	2,73	3,22
MSC GA 30	5	0,95	0,93	2,73	3,22
MSC GA 50	4	0,92	0,88	3,45	4,43
SNV	3	0,93	0,91	3,26	3,66
SNV rPLS	3	0,93	0,92	3,21	3,51
SNV iPLS 10	7	0,96	0,93	2,51	3,13
SNV iPLS 20	5	0,93	0,90	3,16	3,84
SNV iPLS 40	3	0,85	0,81	4,69	5,36
SNV GA 30	2	0,94	0,93	2,92	3,11
SNV GA 50	5	0,92	0,90	3,38	3,93
FD	2	0,93	0,91	3,11	3,56
FD rPLS	1	0,92	0,91	3,39	3,65
FD iPLS 10	5	0,95	0,93	2,60	3,13
FD iPLS 20	2	0,93	0,92	3,13	3,39
FD iPLS 40	2	0,94	0,93	3,02	3,23
FD GA 30	4	0,95	0,93	2,64	3,14
FD GA 50	3	0,94	0,93	3,03	3,28
SD	4	0,89	0,84	3,62	4,49
SD rPLS	6	0,94	0,89	2,55	3,84
SD iPLS 10	3	0,93	0,92	3,13	3,46
SD iPLS 20	2	0,92	0,91	3,39	3,68
SD iPLS 40	3	0,94	0,92	2,89	3,34
SD GA 30	2	0,93	0,92	3,07	3,34
SD GA 50	2	0,93	0,92	3,15	3,44

Általánosan elmondható, hogy a modell teljesítménye legnagyobb mértékben az iPLS és a GA változókiválasztási módszerek alkalmazása során javult. A legjobb teljesítménnyel a nyers spektrális adatoknál az iPLS 20, iPLS 40 modellek jellemezhetők. Adat-előkezeléssel kombinálva pedig az SNV iPLS 10, az SNV GA 30, az FD iPLS 10 és az FD GA30. Utóbbiaknál a determinációs együttható értéke 0,96-0,93 között változott a kalibráció és a validált összefüggések esetében, a keresztellenőrzés átlagos hiba értéke pedig 3,11-3,14 g/100 g között. Figyelembe véve a látens változók számát és a torzítást, a legjobb eredményt az SNV GA 30 modellel értem el, melyet a 8. ábrán szemléltettem is. Az optimalizálás során kiválasztott hullámszámtartományok a következők voltak: 8076-7621 cm^{-1} , 7382-6927 cm^{-1} és 3911-3803 cm^{-1} . Megfigyelhető, hogy a változókiválasztás után a minták a szóródása kisebb, mint a kiindulási modell esetében.

8. ábra: A legjobbnak ítélt PLSR modell szóródási ábrája



4. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A kísérleti eredményeim azt mutatják, hogy az étcsokoládé szacharóztartalma integrált mintaelőkészítéssel meghatározható. A kidolgozott módszerrel kapott referencia adatok és a NIR spektroszkópia együttes alkalmazása lehetővé teszi az étcsokoládék szacharóztartalmának roncsolásmentes vizsgálatát. Ennek következményeképpen nincsen szükség vegyszerek alkalmazására, illetve a vizsgálat időtartalma radikálisan lecsökken.

Az FT-NIR spektroszkópia alkalmazható az étcsokoládék szacharóztartalmának meghatározására a 0,55-46,55 g/100 g közötti mérési tartományban PLS regresszió segítségével. A matematikai modellek teljesítménye javítható különböző adat-előkezelési módszerekkel, azonban a jobb eredmény elérése érdekében célszerű valamilyen változókiválasztási módszert is alkalmazni. Az SD adat-előkezelés és a rekurzív PLSR alkalmazása nem javasolt. A nagy kakaótartalmú (>99%) mintáknál a módszer nem minden esetben alkalmazható kellő pontossággal a kis szacharózkoncentráció miatt. Szükséges lenne az adatkészletet bővíteni további étcsokoládékkal.

Általánosságban elmondható, hogy szacharózon kívül az étcsokoládék kevés esetben tartalmaznak más cukrokat. A vizsgált étcsokoládék között megtalálható volt egy-két olyan minta, amely szacharózon kívül fruktózt és glükózt is tartalmazott. Alacsony számuk miatt a modell építés ezen cukrokra nem volt lehetséges, így kizárólag a szacharózzal foglalkoztam a továbbiakban.

A csokoládé fogyasztásban a tejszokoládék is nagy részt tesznek ki, ezáltal érdemes lenne ezen termékekre is becslési függvényt kidolgozni. Ebben az esetben azonban figyelembe kell venni a szacharóz mellett a laktóz jelentlétét is, amely a kromatográfiás vizsgálatokban további nehézségeket okozhatna a mátrixhatás miatt.

5. ÖSSZEFOGLALÁS

Napjainkra a csokoládégyártás nagy iparággá nőtte ki magát, melynek eredményeként fontos, hogy a gyártásközi termékek, illetve a késztermékek vizsgálatának eredménye, a lehető leghamarabb rendelkezésre álljon. A kakaóbabot, annak pörkölését és fermentálását, beltartalmi paramétereit sokan vizsgálták az elmúlt években, ellenben a csokoládét, mint készterméket már kevesebben. Ennek okán időszerűnek láttam a témát.

A munkám során kereskedelmi forgalomban kapható étcsokoládék cukortartalmát vizsgáltam közeli infravörös spektroszkópia segítségével. A mintákat úgy válogattam össze, hogy kakaótartalmuk széles tartományt fedjen le, melyek közül a legalacsonyabb 46%-os volt, míg a legmagasabb 100%-os volt.

A vizsgálatok során sikeresen meghatároztam az étcsokoládék szacharóz tartalmát nagyműszeres folyadékkromatográfiás módszer segítségével, illetve rögzítettem a minták közeli infravörös spektrumait. Az általam alkalmazott folyadékkromatográfiás módszert sikeresen validáltam étcsokoládé mátrixra. A folyadékkromatográfiás vizsgálatok során egyértelművé vált, hogy a törésmutató detektor segítségével egy komplex mátrixban lévő cukrok vizsgálhatóak, de használata igen körülményes. Illetve a megfelelő kolonna és az elválasztás paramétereinek pontos beállítása kulcsfontosságú a helyes elválasztás megvalósításához. A mérések során az egyik nehézség pont ebből adódott. A rendelkezésre álló kolonna nem bizonyult tejszokoládék esetén a legalkalmazhatóbbnak.

A csokoládé spektrumainak felvételét diffúz reflexiós módban végeztem el, mivel a minták szilárd halmazállapottal rendelkeztek. A spektrális adatokon kemometriai módszereket futtattam le mivel egy becslési függvény létrehozása volt az egyik célkitűzésem. A spektrális adatok karakterisztikája a legtöbb esetben hasonló volt a 95% alatti kakaótartalommal rendelkező minták esetén. Az adat-előkezelés során mindössze három spektrális kiesőt találtam, ezek a csokoládék 95% feletti kakaótartalommal rendelkeztek. A kieső minták szacharóztartalma kimutatási határ alatt volt. A legjobb modellnek az SNV adat-előkezelést és változókiválasztásként genetikus algoritmust (30-as ablakszélesség) kombináló PLS regresszió bizonyult. Összességében elmondható, hogy az FT-NIR spektroszkópia hatékony eszköz lehet étcsokoládék roncsolásmentes vizsgálata során.

IRODALOM JEGYZÉK:

- Afoakwa, E.O., 2010. Chocolate Science and Technology.
- ALBERTS, H.C., CIDELL, J.L., 2006. Chocolate Consumption Manufacturing and Quality in Western Europe the United States. *Geography* 91, 218–226.
- Álvarez, C., Pérez, E., Cros, E., Lares, M., Assemat, S., Boulanger, R., Davrieux, F., 2012. The Use of near Infrared Spectroscopy to Determine the Fat, Caffeine, Theobromine and (–)-Epicatechin Contents in Unfermented and Sun-Dried Beans of Criollo Cocoa. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 20, 307–315. <https://doi.org/10.1255/jnirs.990>
- Andersen, C.M., Bro, R., 2010. Variable selection in regression—a tutorial. *Journal of Chemometrics* 24, 728–737. <https://doi.org/10.1002/cem.1360>
- AOAC 980.13-1980, Fructose, Glucose, Lactose, Maltose, and Sucrose [WWW Document], 1980. URL http://www.aocofficialmethod.org/index.php?main_page=product_info&cPath=1&products_id=2701 (accessed 10.23.24).
- Barišić, V., Kopjar, M., Jozinović, A., Flanjak, I., Ačkar, Đ., Miličević, B., Šubarić, D., Jokić, S., Babić, J., 2019. The Chemistry behind Chocolate Production. *Molecules* 24, 3163. <https://doi.org/10.3390/molecules24173163>
- Beckett, S.T., Fowler, M.S., Ziegler, G.R., 2017. Beckett's Industrial Chocolate Manufacture and Use.
- Bhutada, G., 2020. Cocoa: A Bittersweet Supply Chain [WWW Document]. visual capitalist. URL <https://www.visualcapitalist.com/cocoa-a-bittersweet-supply-chain/>
- Bro, R., Kjeldahl, K., Smilde, A.K., Kiers, H.A.L., 2008. Cross-validation of component models: A critical look at current methods. *Anal Bioanal Chem* 390, 1241–1251. <https://doi.org/10.1007/s00216-007-1790-1>
- Caligiani, A., Marseglia, A., Palla, G., 2016. Cocoa: Production, Chemistry, and Use. *Encyclopedia of Food and Health* 185–190. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00177-X>
- CBI, 2021. What is the demand for cocoa on the European market? [WWW Document]. CBI Ministry of Foreign Affairs. URL <https://www.cbi.eu/market-information/cocoa/what-demand>
- da Costa Filho, P.A., 2009. Rapid determination of sucrose in chocolate mass using near infrared spectroscopy. *Analytica Chimica Acta* 631, 206–211. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.10.049>
- Gunaratne, T.M., Gonzalez Viejo, C., Gunaratne, N.M., Torrico, D.D., Dunshea, F.R., Fuentes, S., 2019. Chocolate Quality Assessment Based on Chemical Fingerprinting Using Near Infra-red and Machine Learning Modeling. *Foods* 8, 426. <https://doi.org/10.3390/foods8100426>
- Gutiérrez, T.J., 2017. State-of-the-Art Chocolate Manufacture: A Review. *Comp Rev Food Sci Food Safe* 16, 1313–1344. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12301>
- Gutiérrez-Ríos, H.G., Suárez-Quiroz, M.L., Hernández-Estrada, Z.J., Castellanos-Onorio, O.P., Alonso-Villegas, R., Rayas-Duarte, P., Cano-Sarmiento, C., Figueroa-Hernández, C.Y., González-Ríos, O., 2022. Yeasts as Producers of Flavor Precursors during Cocoa Bean Fermentation and Their Relevance as Starter Cultures: A Review. *Fermentation* 8, 331. <https://doi.org/10.3390/fermentation8070331>
- Hashimoto, J.C., Lima, J.C., Celeghini, R.M.S., Nogueira, A.B., Efraim, P., Poppi, R.J., Pallone, J.A.L., 2018. Quality Control of Commercial Cocoa Beans (*Theobroma cacao* L.) by Near-infrared Spectroscopy. *Food Anal. Methods* 11, 1510–1517. <https://doi.org/10.1007/s12161-017-1137-2>

- Ibrahim, S.F., Dalek, N.S.E.M., Raffie, Q.A.F.M., Ain, M.R.F., 2020. Quantification of physicochemical and microstructure properties of dark chocolate incorporated with palm sugar and dates as alternative sweetener. *Materials Today: Proceedings* 31, 366–371. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.06.235>
- International trade in chocolate in 2023 [WWW Document], 2024. . eurostat. URL <https://ec.europa.eu/eurostat/web/products-eurostat-news/w/ddn-20240328-1>
- JCAM, 2007. Quantitative Analysis of Sucrose in Confectionary.
- Kongor, J.E., Hinneh, M., De Walle, D.V., Afoakwa, E.O., Boeckx, P., Dewettinck, K., 2016. Factors influencing quality variation in cocoa (*Theobroma cacao*) bean flavour profile — A review. *Food Research International* 82, 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.01.012>
- Krähmer, A., Engel, A., Kadow, D., Ali, N., Umaharan, P., Kroh, L.W., Schulz, H., 2015. Fast and neat – Determination of biochemical quality parameters in cocoa using near infrared spectroscopy. *Food Chemistry* 181, 152–159. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.084>
- Moros, J., Iñón, F.A., Garrigues, S., de la Guardia, M., 2007. Near-infrared diffuse reflectance spectroscopy and neural networks for measuring nutritional parameters in chocolate samples. *Analytica Chimica Acta* 584, 215–222. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.11.020>
- Nielsen, S.S. (Ed.), 2017. *Food Analysis, Food Science Text Series*. Springer International Publishing, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-45776-5>
- Noor-Soffalina, S.S., Jinap, S., Nazamid, S., Nazimah, S.A.H., 2009. Effect of polyphenol and pH on cocoa Maillard-related flavour precursors in a lipidic model system. *Int J of Food Sci Tech* 44, 168–180. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2008.01711.x>
- Oliveira, M.M., Badaró, A.T., Esquerre, C.A., Kamruzzaman, M., Barbin, D.F., 2023. Handheld and benchtop vis/NIR spectrometer combined with PLS regression for fast prediction of cocoa shell in cocoa powder. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 298, 122807. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2023.122807>
- Pérez Sira, E. (Ed.), 2015. *Chocolate: cocoa byproducts technology, rheology, styling, and nutrition, Food science and technology*. Nova Publishers, New York.
- Redgwell, R.J., Hansen, C.E., 2000. Isolation and characterisation of cell wall polysaccharides from cocoa (*Theobroma cacao* L.) beans. *Planta* 210, 823–830. <https://doi.org/10.1007/s004250050685>
- Rinnan, Å., Berg, F.V.D., Engelsen, S.B., 2009. Review of the most common pre-processing techniques for near-infrared spectra. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 28, 1201–1222. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2009.07.007>
- Santos, I.A., Conceição, D.G., Viana, M.B., Silva, G.D.J., Santos, L.S., Ferrão, S.P.B., 2021. NIR and MIR spectroscopy for quick detection of the adulteration of cocoa content in chocolates. *Food Chemistry* 349, 129095. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129095>
- Sari, A.B.T., Fahrurrozi, Marwati, T., Djaafar, T.F., Hatmi, R.U., Purwaningsih, Wanita, Y.P., Lisdiyanti, P., Perwitasari, U., Juanssilfero, A.B., Rahayu, E.S., 2023. Chemical Composition and Sensory Profiles of Fermented Cocoa Beans Obtained from Various Regions of Indonesia. *International Journal of Food Science* 2023, 1–13. <https://doi.org/10.1155/2023/5639081>
- Shiroma, C., Rodriguez-Saona, L., 2009. Application of NIR and MIR spectroscopy in quality control of potato chips. *Journal of Food Composition and Analysis* 22, 596–605. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.09.003>
- Steegmans, M., Iliens, S., Hoebregs, H., 2004. Enzymatic, Spectrophotometric Determination of Glucose, Fructose, Sucrose, and Inulin/Oligofructose in Foods.

- Journal of AOAC INTERNATIONAL 87, 1200–1207.
<https://doi.org/10.1093/jaoac/87.5.1200>
- Velciov, A.-B., Riviş, A., Lalescu, D., Popescu, S., Cozma, A., Kiss, A., Gherman, M., Anghel, I.M., Simescu, R.E., Rada, M., 2021. Determination of some nutritional parameters of dark chocolate. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*.
- Watson, R.R., Preedy, V.R., Zibadi, S. (Eds.), 2013. *Chocolate in Health and Nutrition*. Humana Press, Totowa, NJ. <https://doi.org/10.1007/978-1-61779-803-0>
- Wold, S., Esbensen, K., Geladi, P., 1987. *Principal Component Analysis*.
- Wrage, J., Burmester, S., Kuballa, J., Rohn, S., 2019. Coconut sugar (*Cocos nucifera* L.): Production process, chemical characterization, and sensory properties. *LWT* 112, 108227. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.125>

Diplomamunka

ÁBRAJEGYZÉK

Ábrák:

1. ÁBRA: A KAKAÓBABOK ERJESZTÉSÉNEK FŐ FÁZISAI.....	8
2. ÁBRA: MINTAELŐKÉSZÍTÉS FOLYAMATÁBRÁJA	15
3. ÁBRA: AZ 5 MG/ML KONCENTRÁCIÓJÚ KALIBRÁCIÓS PONT KROMATOGRAMJA.....	20
4. ÁBRA: CSOKOLÁDÉ MINTÁK HPLC-RID KROMATOGRAMJAI: A) 47% KAKAÓTARTALMÚ MINTA; B) 100% KAKAÓTARTALMÚ MINTA	22
5. ÁBRA: SNV ADAT-ELŐKEZELT NIR SPEKTRUMÁTLAGOK ÉS A SZACHARÓZ SPEKTRUMA	23
6. ÁBRA: FŐKOMPONENS ELEMZÉS FONTOSABB EREDMÉNYEI	25
7. ÁBRA: AZ EREDETI SPEKTRÁLIS ADATOKON FUTTATOTT PLS REGRESSZIÓ EREDMÉNYE	27
8. ÁBRA: A LEGJOBBNAK ÍTÉLT PLSR MODELL SZÓRÓDÁSI ÁBRÁJA	29

Táblázatok:

1. TÁBLÁZAT: INDONÉZIA KÜLÖNBÖZŐ RÉGIÓIBÓL SZÁRMAZÓ KAKAÓBABOK GLÜKÓZ ÉS FRUKTÓZ TARTALMA.....	9
2. TÁBLÁZAT: A KAKAÓBAB PÖRKÖLÉS HATÁSA A MONOSZAHARIDOK KONCENTRÁCIÓJÁRA ...	10
3. TÁBLÁZAT: KÖZELI INFRAVÖRÖS SPEKTROSKÓPIÁT ALKALMAZÓ PUBLIKÁCIÓK ÖSSZEFOGLALÁSA, CSOKOLÁDÉ ÉS KAKAÓBABOK VIZSGÁLATÁRA VONATKOZÓAN.....	12
4. TÁBLÁZAT: MINTÁK ÁTLAGOS ÖSSZETÉTELE A TÁPÉRTÉKTÁBLÁZATOK ALAPJÁN	13
5. TÁBLÁZAT: A VALIDÁLÁS EREDMÉNYE	21
6. TÁBLÁZAT: A SZACHARÓZ JELLEGZETES ABSZORPCIÓS SÁVJAI A KÖZELI INFRAVÖRÖS TARTOMÁNYBAN.....	24

Egyenletek:

1. EGYENLET: KIMUTATÁSI HATÁR (LOD) SZÁMÍTÁSÁNAK KÉPLETE.....	17
2. EGYENLET: MEGHATÁROZÁSI HATÁRT (LOQ) SZÁMÍTÁSÁNAK KÉPLETE	17

KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

A kutatás az Új Nemzeti Kiválósági Program „Tudománnyal fel!” Felsőoktatási Doktorvárományosi és Posztdoktori Kutatói Ösztöndíj (ÚNKP-23-4-II) támogatásával valósult meg. A támogatásért köszönet a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatalnak és a Kulturális és Innovációs Minisztériumnak.

A Kulturális és Innovációs Minisztérium EKÖP-MATE/2024/25/13 kódszámú Egyetemi kutatói Ösztöndíj Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatásával készült.

NYILATKOZAT

a diplomadolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: Matejka Gergely
A Hallgató Neptun kódja: OKA16F
A dolgozat címe: Módszerfejlesztés csokoládé cukortalmának roncsolásmentes vizsgálatára
A megjelenés éve: 2024
A konzulens intézetének neve: Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
A konzulens tanszékének a neve: Élelmiszerkémia és Analitika tanszék

Kijelentem, hogy az általam benyújtott diplomadolgozat egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, és az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

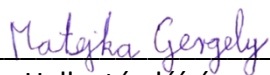
Ha a fenti nyilatkozattal valótlan állítottam, tudomásul veszem, hogy a záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.

Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkori szellemi tulajdon-kezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem MATER Hallgatói Dolgozatok repozitóriumába. Tudomásul veszem, hogy a megvédett és nem titkosított dolgozat a védést követően nyilvánosan elérhető és kereshető lesz az Egyetem MATER Hallgatói Dolgozatok repozitóriumában.

Kelt: 2024. 11. 04.


Hallgató aláírása

NYILATKOZAT

Matejka Gergely (hallgató Neptun azonosítója: OKA16F) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a diplomadolgozatot¹ áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A diplomadolgozatot a záróvizsgán történő védeésre javaslom / nem javaslom².

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem³

Kelt: 2024. november 4.



belső konzulens