

DIPLOMADOLGOZAT

Lehota Vilmos

2023



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Budai Campus
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
Élelmiszerbiztonsági és -minőségi mesterképzési szak

**Húskészítmények fehérjetápértékének meghatározása és
fehérje kiegészítés hatásának vizsgálata**

Belső konzulensek: Dr. Abrankó László Péter

egyetemi tanár

Dr. Tormási Judit

egyetemi tanársegéd

Belső konzulensek intézete/tanszéke:

Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet,

Élelmiszerkémia és Analitika Tanszék

Készítette: Lehota Vilmos

Budapest

2023

Tartalomjegyzék

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLITŰZÉSEK.....	5
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	7
2.1. ÉLELMISZER-HAMISÍTÁS	7
2.1.1. AZ ÉLELMISZERHAMISÍTÁS FOGALMA ÉS TÖRTÉNETE	7
2.1.2. AZ ÉLELMISZERHAMISÍTÁS JOGI HÁTTERE	9
2.2. HÚS HAMISÍTÁS	10
2.2.1. A HÚSHAMISÍTÁSRÓL ÁLTALÁNOSÁGBAN	10
2.2.2. GYAKORI HÚSHELYETTESÍTŐK, A NÖVÉNYI FEHÉRJÉK	10
2.2.3. EGYÉB ÁLLATI EREDETŰ FEHÉRJÉK HASZNÁLATA	11
2.3. FEHÉRJÉK	12
2.3.1. FEHÉRJÉK	12
2.3.2. AMINOSAVAK	13
2.4. FEHÉRJEMINŐSÉG SZÁMERŰSÍTÉSE (DIAAS, PDCAAS)	15
2.4.1. PDCAAS.....	15
2.4.2. DIAAS.....	16
2.5. <i>IN VITRO</i> EMÉSZTÉSSZIMULÁCIÓ.....	17
3. ALKALMAZOTT MÓDSZEREK	20
3.1. FELHASZNÁLT ANYAGOK	20
3.2. MÓDSZEREK	20
3.2.1. MINTÁK KÉSZÍTÉSE.....	20
3.2.2. KJELDAHL MÓDSZER.....	22
3.2.3. SOXHLET MÓDSZER.....	22
3.2.4. <i>IN VITRO</i> EMÉSZTÉSSZIMULÁCIÓ.....	23
3.2.5. ZSÍRSAVPROFILOZÁS.....	25
3.2.6. AMINOSAVPROFILOZÁS.....	25
3.2.7. STATISZTIKAI ÉRTÉKELÉS	26
4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK.....	27
4.1. FEHÉRJEMÉRÉS	27
4.2. ZSÍRTARTALOM MÉRÉS	28
4.3. ZSÍRSAVPROFIL.....	29
4.4. FEHÉRJEMINŐSÉG MEGHATÁROZÁSA.....	31
5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK	40
6. ÖSSZEFOGLALÁS	41
IRODALMJEGYZÉK.....	43
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	47

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLITŰZÉSEK

A táplálék minden élőlény egyik alapvető szüksége, amely szénhidrátokból, vízből, zsírokból és fehérjékből áll, amelyeket az állatok, beleértve az embereket is, megesznek, vagy megisznak, annak érdekében, hogy a táplálékot a szervezetükbe juttassák (Choudhary és mtsai. 2020).

Az élelmiszerek hamisítása, valamint az élelmiszerek minőségének szándékos megváltoztatása mindig is probléma volt az élelmiszeripar, az azt ellenőrző szervezetek, valamint a fogyasztók számára. Vannak olyan élelmiszerek, amelyek jobban kitettek a hamisítás veszélyének, ez lehet a nagy népszerűségük, vagy a magas értékük miatt (Silvis és mtsai. 2017). Az élelmiszerhamisítások jelentős része a gazdaságilag motivált hamisítás kategóriájába esik, ebben az esetben sokszor alacsonyabb minőségű és olcsóbb alapanyagra cserélik egyes összetevőit az élelmiszernek, ennek feltüntetése nélkül. Ide tartozik az is, amikor egyes márkaneveket hamisan, a fogyasztót megtévesztve használnak, vagy mikor nem, vagy nem megfelelően tüntetik fel a termék eredetét.

A múltban számos ilyen eset történt, mint például a 2008-as tápszer hamisítás Kínában, melynek során a csecsemőknek szánt tápszerbe mérgező anyagot tettek, hogy növeljék annak fehérjetartalmát. Az eset során 294.000 gyermek betegedett meg, amelyből 50.000-en kórházi kezelésre szorultak és hat haláleset is történt. Malajziában 2018-ban metanol-mérgezéssel kapcsolatban kilencven személyt kellett kórházba szállítani ebből hatvannégyen meg is haltak (Visciano és Schirone 2021). A Covid-19 és a jelenlegi háborús helyzet okozta növekvő élelmiszer kereslet az iparági ellenőrzések csökkentését, az irányítás és az auditok gyengülését, valamint az élelmiszeriparra nehezedő egyre nagyobb nyomást eredményezte, ezzel nőtt a kitettség az egyes élelmiszer eredetű csalásoknak (Brooks és munkatársai. 2021).

Munkám során a különböző általam készített húskészítményeket vizsgáltam, azzal a céllal, hogy az esetleges hamisítási módszerek fehérjetartalomra és fehérjeösszetételre gyakorolt hatásait mérjem az esetleges fogyasztókra gyakorolt élettani hatására való tekintettel. A kutatás során a különböző fehérjeösszetételű termékek kollagénnel, valamint szója porral dúsított, illetve csak MSM hús hozzáadásával készült termékeket hasonlítottam a készített kontroll, a pulykadarálthúsból készült mintához.

A kutatás célja a hamisítási szándékkal alkalmazott magas fehérjetartalmú készítmények felhasználásával gyártott vörösáruk fehérjeminőségének meghatározása *in vitro* emésztésszimulációt követően. A kiegészítés fehérjeminőségre gyakorolt hatásának feltárása és számszerűsítése. A nemzetközileg elfogadott fehérjeminőség mutató, a DIAAS (Digestible Indispensable Amino Acid Score azaz Emészthető Nélkülözhetetlen Aminosav Érték) meghatározása és alkalmazása az összehasonlítás alapja.

A kísérletek során dúsított vörösárukat, valamint MSM alapú vörösáru jellegű terméket, és az általam készített, kontroll vörösárukat különböző módszerekkel vizsgáltam Kjeldahl módszer segítségével a fehérjetartalmát, Soxhlet módszer segítségével a zsírtartalmát, valamint a kinyert zsírtartalomból zsírsav profilozást végeztem. Ezután *in vitro* emésztéssel (INFOGEST módszerrel) a minta emészthetőségét vizsgáltam, majd aminosav profilozást végeztem, amely után kiszámítottam a PDCAAS és DIAAS értékeket és ezek alapján összevetettem a mintákat.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. ÉLELMISZER-HAMISÍTÁS

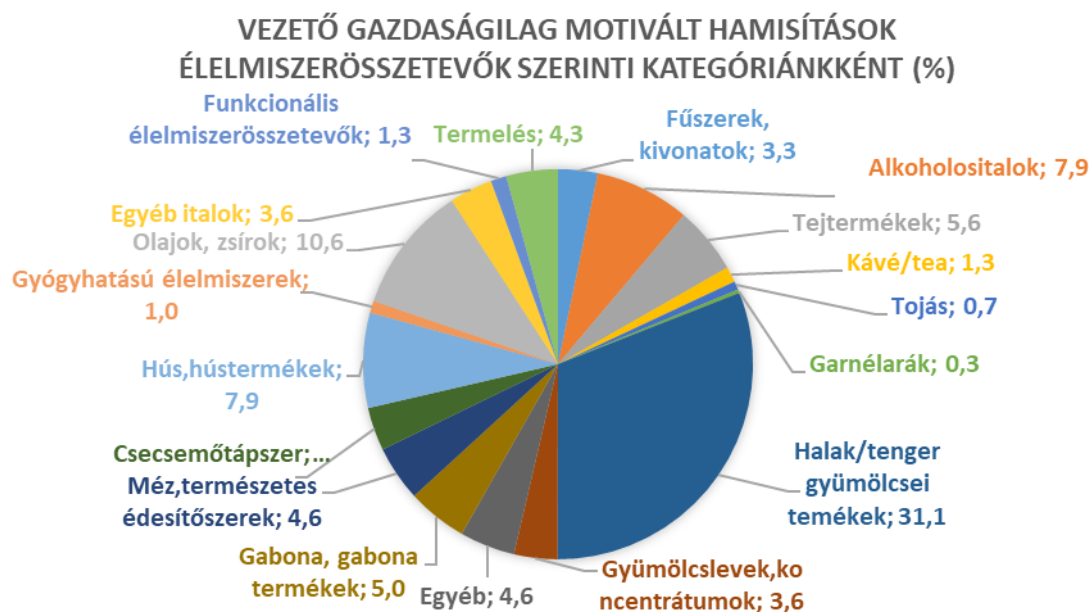
2.1.1. AZ ÉLELMISZERHAMISÍTÁS FOGALMA ÉS TÖRTÉNETE

Az élelmiszerhamisítás olyan folyamat, mely általában haszonszerzés céljából történik, és melynek során az élelmiszer minősége élelmiszerösszetevők vagy egyéb létfontosságú anyagok hozzáadásával és/vagy kicserélésével módosul (Choudhary és munkatársai. 2020). Az élelmiszerek hamisítása és azok visszaszorítása az ipar és a kormányzat együttes felelőssége (Spink és Moyer 2011). A hamisítás komoly kockázatot jelent a fogyasztók számára, ezért egyre nagyobb figyelmet vált ki.

Az élelmiszerek hamisítása az élelmiszer előállítással egy időben jött létre már az ókorból is maradtak fenn írásos emlékek erről. A rómaiak idejében már jogszabályok védték a polgárokat az egyes élelmiszerek hamisítása ellen, ilyen volt például a bor vizezése vagy különböző édesítő szerekkel történő feljavítása (Armstrong 2009).

Bár az alapvető módszerek nagyon hasonlóak maradtak az ókorban alkalmazottakhoz mértékük jelentős mértékben megváltozott. A modern világban az élelmiszer ellátási láncok meghosszabbodtak, így az élelmiszercsalások kockázata megnőtt, és az egész világ népességére kiterjedt (Spink és Moyer 2011).

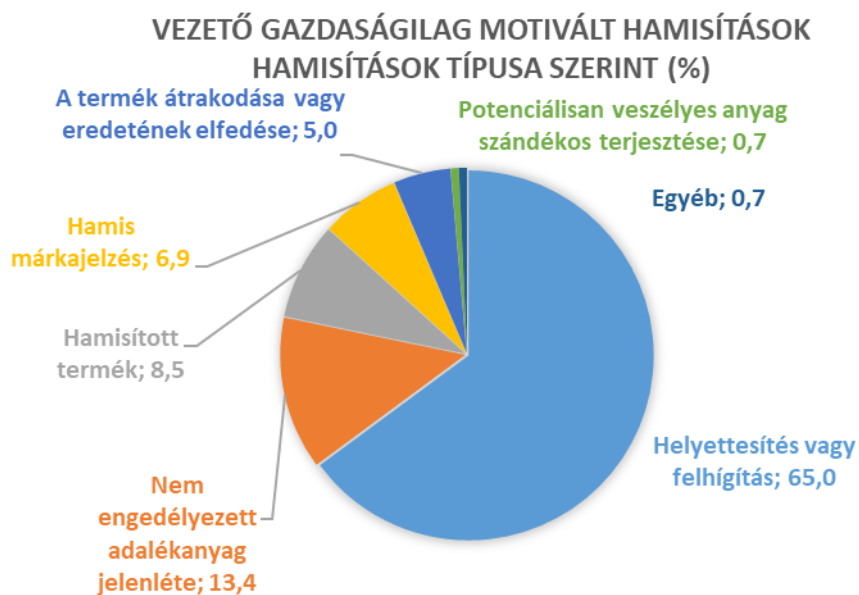
1. ábra: Vezető gazdaságilag motivált hamisítások élelmiszerösszetevők szerinti kategóriáinként 1980-2013 NCFPD adatbázisa alapján saját szerkesztés (Johnson 2014).



Az élelmiszerhamisítási módszerek felderítése az utóbbi években jelentős mértékben fejlődött, de ezzel együtt fejlődtek az élelmiszer csalások módszerei is. Az első ábrán az 1980-tól 2013 novemberéig a világon történt több mint 300 gazdaságilag motivált élelmiszer csalás látható élelmiszerösszetevők bontásában. Ebből megállapítható, hogy a legtöbb bejelentett eset a halak és tengergyümölcsai kategóriában található ez a teljes esetek közel harmada, de százalékosan nagy arányt tesz ki az olajok, zsírok, hús és hústermékek, alkoholos italok kategóriája is.

A második ábrán a közel ugyanezen időszak alatt történt hamisítások típus szerinti csoportosítása látható (Ez 2014. január 6-ig vizsgálja az eseteket az előzőnél 4-gyel több eset) itt megfigyelhető, hogy az esetek nagytöbbsége közel kétharmada a helyettesítési és/vagy felhígítási kategóriába esik ez azt jelenti, hogy ebben az esetben az élelmiszerek egyes összetevőit olcsóbb alacsonyabb minőségűekre cserélték, vagy felhígítottak más olyan összetevőkkel, amiket nem tüntettek fel. A további egyharmadban olyan esetek a meghatározóbbak, amikor a termék olyan adalékanyagot tartalmazott, ami nem engedélyezett (13,4%), vagy a termék/márka hamisítások, eredetre vonatkozó információk eltüntetése.

2. ábra Vezető gazdaságilag motivált hamisítások típusa szerint 1980-2014 NCFPD adatbázisa alapján saját szerkesztés (Johnson 2014)



2.1.2. AZ ÉLELMISZERHAMISÍTÁS JOGI HÁTTERE

Az élelmiszerhamisítás visszaszorításának érdekében számos hazai és nemzetközi jogszabály született. Ezek közül a legfontosabb magyar törvény a 2008. évi XLVI. törvény az élelmiszerláncról és hatósági felügyeletéről (későbbiekben: (Éltv.) 14/A. § első bekezdése szerint:

„A hamisított termék előállítása és forgalomba hozatala tilos.”

Arról, hogy mi minősül hamisított terméknek a második bekezdés rendelkezik:

„Hamisított terméknek az minősül a) amelynek minőségmegőrzési, fogyaszthatósági, illetve felhasználhatósági idejét jogellenesen meghosszabbították, b) amelyet nem megengedett összetevő felhasználásával állítottak elő, c) amelynek átcímkézése vagy átcsomagolása jogsértő módon történt, d) amelyet emberi fogyasztásra nem alkalmas anyagokból vagy termékekből állítottak elő emberi fogyasztás céljára, e) amelynek emberi fogyasztásra való alkalmatlanságát elfedik, f) amelynek rendeltetésszerű használatát elfedik, g) amelyet lényeges külső tulajdonságának jogellenes megváltoztatásával állítottak elő, h) amelyet az előállításra kizárólagosan jogosult hozzájárulása nélkül állítottak elő, vagy i) amelyet lényeges tulajdonságára vonatkozó félrevezető megjelöléssel hoztak forgalomba gazdasági előny vagy haszonszerzés céljából.”

Az Éltv 14/A § 4. bekezdése alapján: *„Tilos olyan a) élelmiszer előállítása, illetve forgalomba hozatala, amelyet a rá vonatkozó előírásokban, engedélyekben vagy a gyártmánylapban meghatározott minőségi előírásoknak nem megfelelően állítottak elő, b) élelmiszer előállítása, illetve forgalomba hozatala, amelyet részben vagy egészben lejárt minőségmegőrzési, illetve fogyaszthatósági idejű anyagokból állítottak elő, c) termék előállítása, illetve forgalomba hozatala, amelyet az adott tevékenység vonatkozásában nem engedélyezett, illetve nem nyilvántartott módon állítottak elő, illetve hoztak forgalomba.”* (Kft é. n.)

2.2. HÚS HAMISÍTÁS

2.2.1. A HÚSHAMISÍTÁSRÓL ÁLTALÁNOSÁGBAN

A húst jó táplálkozási tulajdonságai, valamint íze miatt kiváló fehérje forrásnak tartják, és nagy mennyiségben fogyasztják a fejlett országokban. Így nem meglepő, hogy a nagy kereslete és magas értéke miatt előszeretettel hamisítják.

Erre jó példa a 2013-ban napvilágot látott lóhúsbotrány, amely két írországi és egy egyesült királysági húszületet érintett. Az üzemekben többek közt hamburgertermékeket készítettek, ezekben volt megtalálható a kifogásolt lóhús, mint összetevő („Horse DNA found in some beef burger products” é. n.). Az eset után a feldolgozott hústermékek iránti bizalom jelentősen megingott. Ezzel párhuzamosan az ágazatban a kereskedelem jelentősen csökkent. (O'Mahony 2013).

A húshamisítás különböző területekre csoportosítható, ahol a hamisítás a legvalószínűbb: a hús eredete, a hús helyettesítése, a húsfeldolgozás és a nem hús jellegű összetevők hozzáadása. Ezek a területek, további alkategóriákra bonthatóak, melyek a hús eredete esetén a nem, húsrészek, fajta, takarmánybevitel, vágási kor, vadhús kontra tenyésztett hús, biohús kontra hagyományos hús és földrajzi eredet a hús helyettesítésekor - húsfaj, zsír és fehérje; a húsfeldolgozás során- besugárzás, friss hús kontra felolvasztott hús és húskészítmény; a nem hús jellegű összetevők hozzáadása esetén - adalékanyagok és víz. (Ballin 2010).

Az utóbbi hamisítási mód legfőképpen feldolgozott hústermékek esetén érhető tetten. Ebben az esetben ugyanis nemcsak olcsóbb húsrészek vagy állati szövetek, mint például kollagén, vagy belső szervek hozzákeverésével, de az állati fehérjéknél olcsóbb növényi fehérjével történő helyettesítése is gyakori hamisítási módszer (Soares és munkatársai. 2013). Bár a növényi fehérjék húspótlóként való felhasználása jelenleg elterjedt gyakorlat a húsiparban, ha a címkén nem szerepel, a húskészítményekhez való hozzáadásuk a termelési költségek csökkentése érdekében alkalmazott tisztességtelen gyakorlatot takar (Soares és munkatársai. 2014).

2.2.2. GYAKORI HÚSHELYETTESÍTŐK, A NÖVÉNYI FEHÉRJÉK

A hústermékek esetén gyakran alkalmazott fehérje pótló a növényi fehérje. A növényi fehérjék közül a legszélesebb körben alkalmazott a szójafehérje.

Használatát egyes országokban különböző módon szabályozzák; például, az amerikai szabályozás a szójafehérjét tartalmazó húskészítményekre vonatkozóan 3,5% szójaliszt és 2% szójafehérje-izolátum szintjét engedélyezi a kolbászokban (Belloque és munkatársai. 2002).

Brazíliában a megengedett legnagyobb mennyiség hot dog és hamburger esetén 0,04%, míg főtt sonka esetén 0,02 % szójafehérje (Brod és Arisi 2007). Spanyolországban a határérték 3% a termék szárazanyag tartalmára vonatkoztatva (Castro és munkatársai. 2007).

Ameddig az egyes termékeknel az adott ország szabályozásában előírt mennyiségű szóját alkalmazunk, és ezt feltüntetjük az összetevők között is, nem történik hamisítás, ám amennyiben ezektől az alapelvektől eltérően cselekszünk már hamisítást hajtunk végre.

A szójafehérjét évszázadok óta használják emberi táplálkozásra. A szójafehérjék a szójabab a teljes szárazanyag mintegy 40%-át alkotják, és a legfontosabb szerepet játszanak az élelmiszer-feldolgozásban. A fehérjék mintegy 90%-a vízzel vonják ki. Az így nyert fehérjék mintegy 90%-a 4,5-4,8 pH-n csapódik ki, ezeket savval kicsapható fehérjének vagy szójabab globulinoknak nevezik. A szójabab globulinok 4 fő összetevőből állnak, amelyeket a következőkkel jelölnek meg 2S, 7S, 11S és 15S (Fukushima 1991).

2.2.3. EGYÉB ÁLLATI EREDETŰ FEHÉRJÉK HASZNÁLATA

A más állatoktól származó hús és a növényi fehérjék mellett, az egyéb állati szövetekkel való fehérje pótlás is bevett gyakorlat (Ballin 2010). Emellett a látszólagos fehérje tartalom növelésére, előszeretettel alkalmaznak más állati eredetű anyagokat, mint például a sertésszelatin vagy sertés vérplazma, melyek nem csak gazdasági kárt okoznak a vásárlóknak, de a különböző vallási okokból követett diéták esetén is okozhatnak gondot, mint például a halal étkezés (Nakyinsige, Man, és Szazili 2012).

A kollagén legelterjedtebb és mindenütt jelenlévő állati eredetű fehérje, amely az összes fehérje mintegy 30%-át teszi ki. A kollagén elsősorban a kötőszövetekben található meg, beleértve az állati bőr, csont, porc, ín és vérereket (Ridzwan 2015).

A kollagén tulajdonságai két csoportra oszthatók. Először is zselésítő tulajdonságokhoz kapcsolódó, mint például a sűrítő, gélképző és a vízmegkötő képesség. Másodszor, a felületi viselkedésükkel kapcsolatos tulajdonságok, amelyek az emulzió, habképződés, stabilizáció, adhézió és kohézió, védő kolloid funkció és a filmképző képesség (Gómez-Guillén és munkatársai. 2011).

A kollagént főleg sertés, illetve szarvasmarha csontból és bőrből nyerik ki (W. Liu és munkatársai. 2009). A kollagén egy három polipeptidláncból álló hármas spirált alkotó fehérje az extracelluláris mátrixban. Minden lánc több ezer aminosavból áll a Gly-X-Y szekvencia alapján. Az X és Y pozíciókban többnyire prolin és hidroxiprolin található (D. Liu és munkatársai. 2012).

A zselatin egy nagyfokú feldolgozottságú fehérje, amelyet széles körben alkalmaznak zselésítő és sűrítő anyagként, esetünkben fehérjék pótlására és helyettesítésére is alkalmazható (Demirhan, Ulca, és Senyuva 2012). A zselatint kollagén hidrolízisével nyerik amelyeket kinyerhetnek többek közt olyan vágóhídról származó melléktermékekből mint a csont vagy a bőr (Karim és Bhat 2008). A leggyakoribb zselatinforrások a sertésbőr (46%), a szarvasmarhabőr (29,4%), valamint a sertés- és szarvasmarhacsont (23,1%). A halzselatin 2007-ben a teljes zselatintermelés kevesebb mint 1,5%-át tette ki (Gómez-Guillén és munkatársai. 2011). A zselatin mintegy 18 aminosavat tartalmaz részlegesen rendezett módon összekapcsolva. Az aminosavak három csoportja dominál a zselatin molekulában. A glicin, vagy alanin az összes aminosav közel felét teszi ki, Az összes aminosav körülbelül egynegyede prolin vagy hidroxiprolin. (Djagny, Wang, és Xu 2001).

A vérplazma szintén vágóhídi melléktermék, amely magas biológiai értéke és kiváló funkcionális tulajdonságainak köszönhetően előszeretettel alkalmazott összetevő. Fő funkcionális tulajdonságai közé tartozik a habok és emulziók stabilizálása (Saguer és munkatársai. 2007). Fehérjetartalma egy összetett keverék, amely fő alkotó elemei a szérum albumin, a globulinok és a fibrinogén. Az albumin és a globulinok azok a globuláris fehérjék, amelyek a teljes plazmafehérje mintegy 60, illetve 40%-át teszik ki. A fibrinogén egy rostos fehérje, amely a vérplazma fehérjéinek mintegy 3-4%-át alkotják (Putnam 2012).

2.3. FEHÉRJÉK

2.3.1. FEHÉRJÉK

A fehérjék komplex makromolekulák, előfordulnak az állati és a növényi szervezetekben. Az élősejtek szárazanyagtartalmának közel 50%-át fehérjék teszik ki. Legfontosabb építőelemeik az α -L-aminosavak, melyek meghatározzák a fehérje legfőbb tulajdonságait kémiai, fizikai és biológiai téren (Csapó, Csapóné Kiss, és Albert 2007).

Az élelmiszerekben lévő fehérjék funkcionális tulajdonságai a fehérjék szerkezeti és egyéb fizikai-kémiai jellemzőivel függenek össze. A fehérjék fizikai, kémiai és funkcionális tulajdonságainak, valamint e tulajdonságok feldolgozás során bekövetkező változásainak megértése alapvető fontosságú. Különösen abban az esetben, ha javítani akarjuk a fehérjék élelmiszerekre gyakorolt hatását, és az iparban alulhasznosított fehérjéket, például a növényi fehérjéket és a tejsavófehérjéket egyre nagyobb mértékben akarjuk felhasználni a hagyományos és feldolgozott élelmiszerekben (Damodaran 2019).

A fehérjeszükségletet felnőttek és gyermekek esetében a nitrogénegyensúly becslésével, a napi fehérjebevitel és a nitrogénfelvétel mértékének mérése alapján történik. Az ajánlott napi fehérjebevitel függ az egyén korától nemétől, valamint testsúlyától az átlagos bevitel 0,8-1 g/ testtömeg kilogramm. A növekedés és fejlődés fenntartása érdekében, a nitrogénmérlegnek pozitívnak kell lennie serdülőkorban (Boisseau és munkatársai. 2002). Ebből kifolyólag lehet az, hogy a gyermekeknek és a kismamáknak a napi fehérjeszükséglete magasabb, mint az átlagemberének.

2.3.2. AMINOSAVAK

A természetben előforduló aminosavak közül megkülönböztetünk kilenc aminosavat, amelyek az esszenciális aminosavak: hisztidin, izoleucin, leucin, lizin, metionin, fenil-alanin, treonin, triptofán, valin. Az esszenciális aminosavakat azért nevezzük így, mivel ezeket az emberi szervezet nem képes szintetizálni ezért ezeket mindenképpen külső forrásból kell bevinnünk a szervezetünkbe (Lopez és Mohiuddin 2022).

Minden friss növényi és állati eredetű élelmiszer tartalmaz esszenciális aminosavakat (EAA). Minden élelmiszerben nagyobb arányban vannak kötött formában, de a feldolgozottsági fokkal csökken a szabad EAA jelenléte. Eltérés figyelhető meg a különböző forrásból származó élelmiszerek EAA tartalmában az állati eredetű élelmiszerekhez képest, a növényi eredetűek általában kevesebb lizint, metionint treonint és triptofánt tartalmaznak (Wu 2021).

Az élelmiszerekben lévő aminosavak szabad formában vagy kötötten vannak jelen. Peptidekben, fehérjékben, vagy nem peptidhez kötődve polimerekben. A természetben előforduló L-aminosavak a szükségesek a fehérjeszintézishez, és prekursorok az olyan alapvető molekuláknak, mint a koenzimek és a nukleinsavak (Peace és Gilani 2005).

Az első táblázatban látható a napi ajánlott fehérjebevitel aminosav bontásban a különböző életkorokat figyelembe véve. A táblázatban megfigyelhető, hogy az ajánlott bevitel a gyermekek és a csecsemők esetében jóval magasabb, mint a felnőttek esetében. Az állati és növényi eredetű élelmiszerek kombinációja fedezheti az emberek és más állatok EAA szükségletét a különböző növényi eredetű élelmiszerek fogyasztása kiegészítő hatással lehet az aminosavak minőségének és mennyiségének növelésében, de nagyobb gondot okozhat a megfelelő EAA koncentráció elérése.(Hou és Wu 2018)

1. táblázat: A csecsemők gyermekek és a felnőttek ajánlott napi aminosav bevitele a WHO javaslata alapján (Allowances 1989).

	Napi ajánlott bevitele mg/kg, korcsoportonként			
Aminosav	Csecsemők	Gyermekek 2 éves korig	Gyermekek 10-12 éves	Felnőttek
Hisztidin	28	20	20	8-12
Izoleucin	70	31	28	10
Leucin	161	73	42	14
Lizin	103	67	44	12
Metionin+cisztin	58	27	22	13
Fenil-alanin+tirozin	125	69	22	14
Treonin	87	37	28	7
Triptofán	17	12,5	3,3	3,5
Valin	93	38	25	10

Az emésztés során a fehérjék peptidekké és végül aminosavakká hidrolizálódnak, amelyeket aztán az emberi szervezet könnyen felvehet. Az ebben a folyamatban részt vevő enzimeket peptidázoknak nevezik. Az emberi peptidázok a gyomorban, a hasnyálmirigyben és a vékonybélben találhatók (Joye 2019). A végső emésztés a vékonybélben történik olyan enzimek, mint az aminoszintázok és tripszinok által, amelyek a megmaradó rövid peptid fragmentumokat egyszerű AA- vagy di- és tripeptidekre bontják, amelyek felszívódhatnak a bélnyálkahártya sejtjei által. Az emésztetlen és fel nem szívódott nitrogéntartalmú maradványok ezután a vastagbélbe (colon) kerülnek, ahol további mikrobiális módosítások lehetségesek, mielőtt a széklettel kiválasztódnak (Boye, Wijesinha-Bettoni, és Burlingame 2012).

2.4. FEHÉRJEMINŐSÉG SZÁMERŰSÍTÉSE (DIAAS, PDCAAS)

Egy fehérjeforrás táplálkozási minősége az emberek vagy az állatok számára az adott fehérjeforrás tápértékét tekinthetjük úgy, hogy fedezni tudja a nitrogén- és aminosav-szükségletet az adott szervezetek számára. A fehérjék tápanyagminősége nagymértékben eltérhet, főként az (esszenciális) aminosav-összetételüktől és emészthetőségüktől függően (Schaafsma, 2005). A fehérjeemészthetőséget külső és belső tényezők befolyásolják. A belső tényezők közé tartozik a fehérje aminosavprofilja, valamint a fehérje szerkezetének és kötéseinek felépítése. A külső tényezők közé tartoznak a pH, a hőmérséklet és az ionerősség viszonyai, a másodlagos molekulák, például az emulgeálószer és az antinutritív tényezők jelenléte (Joye 2019).

A fehérjék minőségének számszerűsítésére gyakran használt módszerek az aminosav-pontszám (AAS), a nitrogénmérleg (NB), az *in vivo* fehérjeemészthetőség (látszólagos, korrigált vagy valós), az *in vitro* fehérjeemészthetőség, a fehérjehatékonysági arány (PER), a nettó fehérjearány (vagy visszatartás) (NPR), a fehérjeérték (PR), a nettó fehérjefelhasználás (NPU), a biológiai érték (BV) (látszólagos, valós, relatív), a PDCAAS valamint a DIAAS (Boye, Wijesinha-Bettoni, és Burlingame 2012). Ez utóbbi kettő a ma legtöbbször használt módszerek közé tartozik, ami a fehérjék emészthetőségét az utóbbi években egyre inkább elterjedt aminosav alapú mérésekkel határozza meg.

2.4.1. PDCAAS

A fehérjeemészthetőséggel korrigált aminosav-pontszám (Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score) a FAO és WHO közös szakértői konzultációjának eredményeként jött létre 1989-ben az élelmi fehérjék minőségének értékelésére (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2013). A PDCAAS számítását az 1. egyenlet mutatja be.

$$PDCAAS, \% = \frac{\text{az első limitáló aminosav mennyisége 1 g teszt fehérjében, (mg)}}{\text{ugyanazon aminosav mennyisége a referencia fehérje 1 grammjában, (mg)}} * TD (\%)$$

1. egyenlet: A PDCAAS számolásának menete; ahol a TD (true digestibility – valós emészthetőség) érték a vizsgált fehérje valódi székletben történő emészthetősége, mint patkányokkal végzett vizsgálatban mérve.

A képlet szerint a PDCAAS módszer két alapelvre épül. Először arra, hogy az első limitáló esszenciális aminosav tartalma egy fehérjében vagy egy fehérjekeverékében kritikus tényező az adott fehérje, vagy fehérjeösszetétel teljesítménye szempontjából. A fehérjekeveréknek a táplálkozási aminosavak kielégítése szempontjából.

A második alapelv az, hogy a fehérjék csak akkor tudják kielégíteni a táplálkozási igényeket, ha az aminosavak fel tudnak szívódni ezért figyelembe kell venni a fehérje emészthetőségét is. A módszer lényegi feltételezései közé tartozik, hogy az esszenciális aminosavak biológiai hozzáférhetőségét helyesen tükrözi a valódi székletfehérje emészthetőséget, és hogy a referenciafehérje összetételére érvényes (Schaafsma 2005).

A PDCAAS módszernek három kritikus korlátja van; (1) túlbecslés: a PDCAAS a teljes emésztőrendszerben meghatározott nyersfehérje-emészthetőség becslésén alapul, azonban a bélrendszerben lévő fehérje főként mikrobiális eredetű. Az e módszer alkalmazásával kapott értékek általában túlbecsülik a felszívódó aminosavak mennyiségét; (2) csonkolás: a módszert "csonkítással" együtt alkalmazták, amely a fehérjeemészthetőségi pontszámokat legfeljebb 1,00-ra kerekíti le, ha a pontszámok meghaladják a szervezet esszenciális aminosav-szükségletének 100%-át. Ezzel alábecsüli különösen az állati fehérjék magasabb tápértékét; (3) biológiai hozzáférhetőség: A PDCAAS túlértékeli a tápértékcsökkentő tényezőket tartalmazó fehérjék minőségét, és nem veszi figyelembe néhány olyan aminosav csökkent biológiai hozzáférhetőségét, amelyek az élelmiszer-feldolgozás során sérülésre hajlamosak, mint például a lizin, amely így biológiailag hozzáférhetetlenné válhat (Leser 2013).

2.4.2. DIAAS

A módszer a jelenleg rendelkezésre álló legjobb tudományos információk felhasználásával igyekszik pontosabban leírni, hogy az egyes táplálékfehérje-források hogyan képesek kielégíteni az emberi fehérje- és aminosav-szükségletet. Az emészthető, nélkülözhetetlen aminosav érték azaz DIAAS-t egy 2013-ban kiadott FAO jelentés javasolta, mint új módszert a fehérjék minőségének értékelésére. Ez volt a legfontosabb változás a fehérjék minőségének értékelésében a PDCAAS 1989-es bevezetése óta (Leser 2013).

A DIAAS segítségével igyekeztek felülkerekedni a PDCAAS korlátjain a (1) túlbecslés esetében azzal, hogy az egyes aminosavak emészthetőségére összpontosít, és ezeket a vékonybél szakasz végén vizsgálja, ahol pontosabb eredményt kaphatunk a szervezetben felszívódó aminosavak mennyiségéről a korábbi módszer esetében. (2) A „csonkolást” az új számítás azzal küszöböli ki, hogy pontozási rendszerével jobban elkülöníti annak két határán elhelyezkedő fehérjéket, valamint elismeri azt, hogy a jobb minőségű fehérjék kiegészítik az alacsonyabb minőségűek tápértékét. A (3) biológiai hozzáférhetőség esetében a DIAAS várhatóan pontosabban határozza ezen értéket (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2013).

A DIAAS % számítására a következő képlet segítségével van lehetőség (2. egyenlet).

$$DIAAS \% = \min \left(100 * \frac{\text{emészthető esszenciális aminosav 1 g vizsgált fehérjében (mg)}}{\text{ugyanazon emészthető esszenciális aminosav 1 g referencia fehérjében (mg)}} \right)$$

2. egyenlet: A DIAAS számolásához használatos képlet

Az emészthetőséget a valódi bélrendszeri aminosav- emberi vagy állati (sertés) *in vivo* kísérletek alapján (azaz humán vékonybél szakasz végén) az egyes aminosavak mennyiségét lehetőleg emberekben kell meghatározni (Gaudichon és munkatársai. 2002), de ha ez nem lehetséges, akkor a növésben lévő sertésben (Stein és munkatársai. 2007) vagy növésben lévő patkányban (Moughan, Smith, és James 1984).

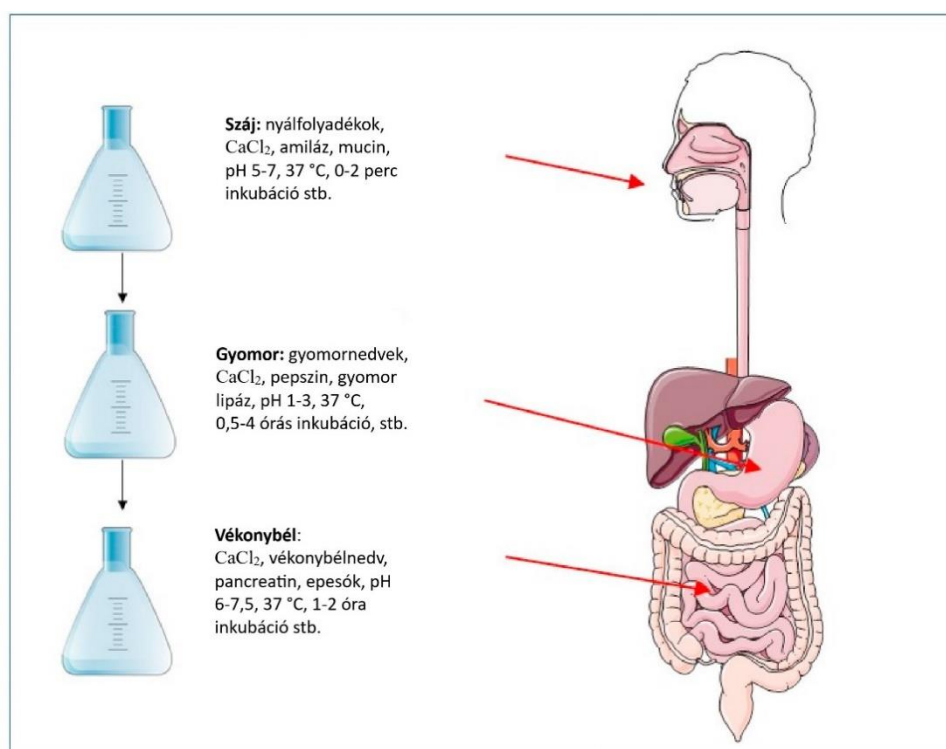
2.5. *IN VITRO* EMÉSZTÉSSZIMULÁCIÓ

Az emésztési folyamatok szimulálására szolgáló *in vitro* módszereket széles körben használják az élelmiszerek gyomor- és bélrendszerben történő viselkedésének tanulmányozására. Annak ellenére, hogy a humán táplálkozási vizsgálatokat még mindig az „arany standardnak” tekintik a táplálkozással kapcsolatos kérdések megválaszolásában, az *in vitro* módszerek előnye, hogy kevésbé költségesek, gyorsabbak, kevésbé munkaigényesek és nincsenek etikai aggályai (Minekus és mtsai. 2014).

In vitro vizsgálatok az emberi tápcsatornában, emésztés során bekövetkező fiziológiai körülmények és eseménysorozat szimulálására szolgálnak, amelynek végrehajtása során először *in vitro* gasztrointesztinális rendszert utánozó módszert alkalmaznak. Így tükrözve az ételre az emésztés során ható fizikokémiai körülményeket, figyelembe véve az emberi emésztőrendszer területeit (száj, gyomor, vékony- és vastagbél), és esetleg a felszívódást is. Az *in vitro* emésztőrendszeri módszerek fő jellemzői a hőmérséklet, a rázás vagy keverés, valamint a nyál, a gyomornedv, a nyombélnedv és az epelevek kémiai és enzimatis összetétele (Wittsiepe és mtsai. 2001). A módszerek között megkülönböztjük a statikus és a dinamikus módszereket. A dinamikus modellek az *in vivo* fizikai folyamatokat utánozzák, így olyan új változókat vesznek figyelembe, mint például az emésztőnedvek viszkozitásának változása, a részecskék méretének csökkenése, a diffúzió és a tápanyagok partícionálása (Fernández-García, Carvajal-Lérída, és Pérez-Gálvez 2009).

A statikus modellek olyan modellek, amelyekben az emésztési termékeket nem távolítják el az emésztési folyamat során, és amelyek nem utánozzák az invazív fizikai folyamatokat. A jó statikus modellek különösen hasznosak ott, ahol korlátozott emésztés történik (csak bizonyos emésztési lépések vagy egyszerű élelmiszerek esetén), de kevésbé alkalmazhatók a teljes emésztés vizsgálatára.

3. ábra: Az *in vitro* emésztési modellek számára legfontosabb gyomor-bélrendszeri régiók, valamint az e régiókban található különböző összetevők és feltételek sematikus ábrája (Tan, Zhou, és McClements 2022).



Az ilyen típusú modelleket elsősorban egyszerű élelmiszerek, és izolált vagy tisztított tápanyagok emésztési vizsgálataihoz használják (Wickham, Faulks, és Mills 2009).

Az emésztésszimulációs módszerek kutatásában fontos előrelépés volt a témában az INFOGEST hálózat 2011-es létrehozása, amely 32 ország több mint 200 területen dolgozó tudósa csatlakozott. Indulásakor a szervezet célja az volt, hogy egységesítse az élelmiszerek szimulált emésztésének feltételeit, és lehetőség szerint konszenzusra jusson egy emésztési modellel kapcsolatban (Dupont és mtsai. 2011).

Ezen hálózat kutatási tevékenységének eredményeképpen 3-év után 2014-ben megjelent az első standardizált módszer INFOGEST módszer (Minekus és mtsai. 2014) ezt aztán a későbbiekben többször is átdolgozták, fejlesztették. Ezen munka hatására 2019-ben jelent meg az INFOGEST 2.0 (Brodkorb és mtsai. 2019). A projekt célja; egy olyan általános *in vitro* emésztési szimulációs modell kidolgozása, amelyet bárhol felhasználva a publikált eredmények összehasonlíthatóak legyenek egymással.

A módszer felépítés alapján három szakaszra osztható: előkészítés, emésztés és mintakezelés, valamint az azt követő elemzés. Vizsgálat előkészítése során az összes emésztőenzim aktivitását és az epesók koncentrációját kísérleti úton kell meghatározni, az amiláz, pepszin és a lipáz koncentrációját az ajánlott standardizált tesztek segítségével. Amennyiben nem sikerülne megfelelően meghatározni az enzimaktivitást, az megváltoztathatja az élelmiszer teljes emésztését. Az emésztés a 3. ábrán bemutatott fázisokat tartalmazza és az ott leírt komponensek segítségével történik. Az emésztési eljárás utolsó lépése a mintavétel, a mintakezelés, a tárolás és a minták későbbi elemzése ez attól függően, hogy milyen későbbi vizsgálatokat végzünk eltérhet egymástól (Brodkorb és mtsai. 2019).

3. ALKALMAZOTT MÓDSZEREK

3.1. FELHASZNÁLT ANYAGOK

- Darált pulykacomb a Gallicoop Zrt. jóvoltából
- MSM pulykahús a pulykacobbal egy állomány és egy vágási nap
- Sertés szalonna
- Jégpehely
- Nitrites pácsó
- Tetra-nátrium-pirofoszfát
- Aszkorbinsav
- Szója por
- Kollagén por

3.2. MÓDSZEREK

3.2.1. MINTÁK KÉSZÍTÉSE

A méréseimet négy eltérő összetételű vörösárun hajtottam végre, melyeket a Állatitermék és Élelmiszer tartósítási tanszéken készítettem el a 2. táblázatban található receptúrák alapján.

2. táblázat: Termék receptúrák (kiemelve a kontrolltól való eltérés)

Hozzávaló neve	Kontroll minta (CO)	Vörösáru MSM húsból (MSM)	Vörösáru kollagénporral (KOL)	Vörösáru szójaporral (SZ)
Darált pulykacomb	200,0 g	-	200,0 g	200,0 g
MSM pulykahús		200,0 g	-	-
Sertés szalonna	80,0 g	80,0g	80,0 g	80,0 g
Jégpehely	120,0 g	120,0 g	120,0 g	120,0 g
Nitrites pácsó	4,0 g	4,0 g	4,0 g	4,0 g
Tetra-nátrium-pirofoszfát	0,6 g	0,6 g	0,6 g	0,6 g
Aszkorbinsav	1,0 g	1,0 g	1,0 g	1,0 g
Kollagén por	-	-	11,1 g	-
Szója por	-	-	-	11,5 g

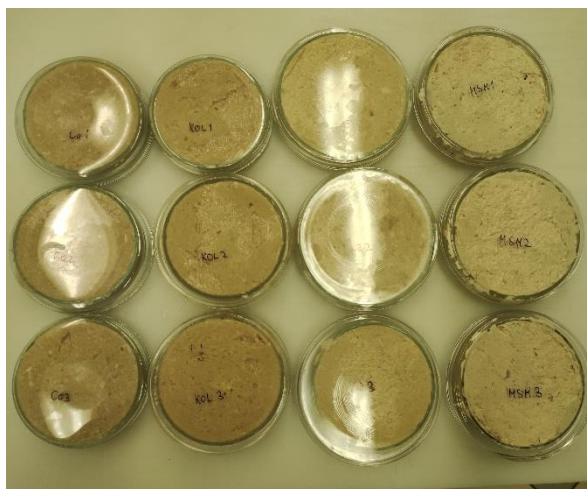
A vörösáru termékeket azonos technológiával állítottam elő, melyhez első lépésben a pulykacombokat kicsontoztam, majd ledaráltam. A szalonnát apró kockákra vágtam, és szintén ledaráltam. Ezután mintánként összemértem a megfelelő mennyiségű szalonnát, húst és jégpelyhet. Ezeket behelyeztem a 4. ábrán látható kutterbe.

4. ábra: Robot coupe R 201 Ultra E Kutter



Mérlegen kimértem az előzetesen a receptúrában meghatározott mennyiségeket az adalékanyagokból (aszorbinsav, pácsó, tetra-nátrium-pirofoszfát) a megfelelő edényekbe helyeztem. Elsőként 30 másodperc kutterezés után hozzáadtam az előzőekben kimért adalékanyagokat, ezután még 4,5 perc kutterezés következett. Az MSM húsból készült minta esetén 7 percig tartott a művelet, mivel csak ezen idő elteltével kaptuk a megfelelő homogén állagot. A húspép elkészülte után azokat kivettem és Petri csészébe töltöttem a 5. ábrán látható módon

5. ábra: Petricsészébe töltött minták



Utolsó lépésként a Petri csészéket hőkezelttem 90°C-on 20 percig sütő segítségével. A minták tömegét feljegyeztem hőkezelés előtt és hőkezelés után is. Miután a minták kihűltek, kb. 10 g-os adagokban műanyag zacskóba csomagoltam, és további mérések elvégzéséig fagyasztva tároltam (-80 °C).

3.2.2. KJELDAHL MÓDSZER

A minták fehérjetartalmának meghatározását a Kjeldahl módszer segítségével végeztem. A mérés első lépése egy kénsavas roncsolás, vagyis emésztés, melynek során 5x5 cm-es celofánra bemértem a 1 g mintát és az emésztőcsőbe helyeztem. Minden minta esetén két párhuzamos mérést végeztem. Az összes csőhöz adtam 1 mL CuSO₄-oldatot, és 1 g K₂SO₄-ot, valamint fülke alatt 20 mL tömény H₂SO₄-t óvatosan összeráztam. A csöveket tartalmazó csőtartót behelyeztem a GERHARDT KJELDATERM berendezés kemencéjébe majd ráhelyeztem az elszívó feltétet. Ekkor indítjuk el az órát és az előre meghatározott fűtési program szerint elvégezzük a roncsolást.

A roncsolási idő végeztével a mintákat hagytam kihűlni. Ezután következett a második lépés melynek során a kihűlt emésztőcsövekhez 40-40 mL desztillált vizet adtam. Ezt követően a GERHARDT VAPODEST 45S készülékbe helyeztem, majd a az előre beállított program segítségével megtörtént a desztillálás a desztillátumokat külön számozott titrálólombikokba gyűjtöttem. A mérés utolsó lépése a visszatitrálás, amely 0,05 M-os H₂SO₄-oldattal történik. A titrálást pH mérés és folyamatos kevertetés közben végeztem kevert indikátor jelenlétében. A kezdeti pH feljegyzése után elkezdem a titrálást egységes térfogat ugrásokkal, minden térfogat változás után feljegyeztem a fogyást és a pH-t. A mérés során az inflexiós ponthoz közel (pH 5-3,5) kisebb térfogat ugrásokkal haladtam. A mérés után grafikusan értékeltem ki az eredményeket. Az alábbi képlettel számoltam:

$$\text{nitrogén}\% = (S \cdot (0,0028016/2) \cdot 100)/b$$

A nitrogéntartalomból korrekciós faktorról (6,25) való beszorzás után megkaptam a fehérjetartalmat.

3.2.3. SOXHLET MÓDSZER

A minták zsírtartalmának mérését a szabványos módszer (ISO 1444:2000) alapján, félautomata Soxhlet berendezés használatával végeztem. Ehhez az ISO 1440:2000 referencia módszer

szerint, előre savtalanított homokkal összekevert (3,0-3,0 g minta, mintánként két ismétléssel) és utána tömegállandóságig szárított mintákat egy papír kapszulába helyeztem, amit az extraktorra csatlakoztattam. Ezután behelyeztem az extraktorba a zsírgyűjtő edényeket, amelyeket a beléjük helyezett üveggyönggyel lemértem. Minden edénybe 70,0 mL petrolétert öntöttem. Ezután következett a 6 órás, extrakció, a visszamaradt zsiradékot tömegállandóságig szárítottam (103 ± 1 °C).

3.2.4. *IN VITRO* EMÉSZTÉSSZIMULÁCIÓ

Az *in vitro* emésztésszimulációt Infogest módszer használatával végeztem. Ennek során az emésztés ciklusait szimulálhatjuk, mely által vizsgálható a termékek fehérje- és zsíremészthetősége, az emésztés során felszabadult, hozzáférhető molekulák mennyisége és minősége alapján.

A módszer a tápcsatorna három szakaszát képes modellezni, a száj, a gyomor és a vékonybél szakaszokat, még hozzá statikus módon, vagyis állandó hőmérséklet, idő, kémhatás, ion- és enzim koncentráció tartásával szakaszonként. A szimuláció végrehajtásához elsőként elkészítettem a meghatározott összetételű szervesetlen szimuláns oldatokat, amelyeket a száj-, gyomor-, és a vékonybél környezet szimulálására alkalmasak ezek pontos összetételét a 3.táblázat tartalmazza.

3. táblázat: Szervesetlen szimulánsok receptúrája

Összetevők	Végző koncentráció az oldatban mM		
	Szervesetlen nyál szimuláns	Szervesetlen gyomornedv szimuláns	Szervesetlen vékonybél-nedv szimuláns
KCl	15,09	6,9	6,8
KH ₂ PO ₄	3,7	0,9	0,8
NaHCO ₃	13,68	25	85
NaCl		47,2	38,4
MgCl ₂ (H ₂ O) ₆	0,15	0,12	0,33
NH ₄ (CO ₃) ₂	0,06	0,5	0
CaCl ₂ (H ₂ O) ₂	1,5	0,15	0,6
HCL	1,1	15,6	8,4
NaOH	0	0	0

Az előkészületek után kimértem a megfelelő, a 4. táblázatban látható mennyiségű (zsírtartalom alapján maximált) mintákat, és elvégeztem a különböző emésztési lépések szimulációját. Minden minta esetén három párhuzamos mérést végeztem.

4. táblázat: Bemért mintamennyiségek

Minta neve	Bemért mennyiség
Kontroll	0,90 g
MSM	0,96 g
Kollagénnel dúsított	0,77 g
Szójával dúsított	0,90 g

Az enzimes emésztés előtt elvégeztem a pH tesztet, amely esetében azt vizsgáltam, hogy az adott szakaszban mennyi 6 M HCl-t vagy 1 M NaOH-t kell adnom, hogy beállítsam a megfelelő pH-t, ami a száj és vékonybél ciklus esetén 7, a gyomor szakasz esetén 3. A minden szakaszban az idő és a termosztát hőmérséklete megegyezett az enzimes emésztés esetében használttal. A teszt eredményeképpen meghatározott pH beállításához szükséges 6 M HCl vagy 1 M NaOH mennyiségét az alábbi táblázat tartalmazza.

5. táblázat: Bemért mintamennyiségek

Minta neve	Gyomor ciklus előtt		Vékonybél ciklus előtt	
	HCL (μL)	desztillált víz (μL)	NaOH (μL)	desztillált víz (μL)
Kontroll	90	1905	20	3940
MSM	65	1930	0	3960
Kollagénnel dúsított	75	1925	0	3960
Szójával dúsított	85	1910	20	3940

Ezután következett az emésztés, melynek első ciklusa során az emésztő edényben lévő 5,0 g mintához hozzáadtam 3,50 mL szervesetlen nyál szimulánst, 25 μL $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O}_2)_2$ -ot, 0,50 mL nyál amilázt és 0,975 mL vizet, majd 2 percre folyamatos forgatás mellett a 37 °C fokos termosztátba a száj ciklus végeztével kivettem a mintákat, majd mindegyikhez hozzáadtam 6,40 mL szervesetlen gyomornedv szimulánst, 5 μL $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O}_2)_2$ -ot, 1,6 mL sertéspepszt, valamint a pH teszt során megállapított mennyiségű 6 M HCl-t és desztillált vizet. Ezután 2 órára folyamatos forgatás mellett a 37 °C fokos termosztátba helyeztem. A

gyomor ciklus végeztével kivettem a mintákat és hozzáadtam 8,5 szervesetlen vékonybél-nedv szimulánst, 40 μL $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$ -ot, 2,50 mL epét, 5,00 mL pankreatint valamint a pH teszt során megállapított mennyiségű 1 M NaOH-t és desztillált vizet ezt újabb 2 óra követte folyamatos forgatás mellett a 37 °C fokos termosztátba.

3.2.5. ZSÍRSÁVPROFILOZÁS

A minták zsírtartalmának kinyerését a korábban ismertetett szabványos módszer (ISO 1444:2000) alapján félautomata Soxhlet berendezés használatával végeztem. A kinyert zsírtartalomból ezután mintánkként 10,0 mg-ot kimértem centrifugacsőbe, ezután hozzáadtam 100,0 μL belső standardot és 900,0 μL izooktánt. Következő lépésben 100,0 μL metanolban oldott Kálium-hidroxidban metilésztereztem a mintát, majd ezt 1 percen keresztül vortex segítségével összekevertem és utána 2 percig állni hagytam. Az idő leteltével hozzáadtam 4,0 mL NaCl oldatot vortex segítségével összekevertem majd centrifugába helyeztem 6000 1/min fordulatra 10 percre. A fázisok szétválása után a felső fázist Na_2SO_4 -et tartalmazó centrifugacsőbe pipettáztam kiszáritás céljából. A kiszáradás után (5 perc) a mintákat GC fiolákba helyeztem. Ezután GC-FID berendezés segítségével vizsgáltam a zsírsavösszetételt majd a kapott kromatogramokat kiértékeltem.

3.2.6. AMINOSÁVPROFILOZÁS

A kiindulási termékekből és a dúsításhoz használt fehérjeporokból 10 mg-ot oldottunk fel 6 M HCl-ben és az emésztményekkel megegyező módon lettek roncsolva. Az emésztés során elkészült vékonybél folyadékból 2-2 mL-t vettem és 8,0 mL metanolt adtam hozzá, hogy elválasszuk az emésztetlen részt, 30 másodpercig vortex használatával összekevertem, utána további mérésig fagyasztva tároltam -80°C-on. A mintákat 6000 fordulat/perc sebességgel centrifugáltuk 20 percig 4°C-on. Ezt követően a felülúszókat elválasztottuk az aminosav-meghatározáshoz. Az emésztett minták a felülúszójából 1000,0 μL -t 1,5 mL-es mikrocsőbe vittem át, majd rotációs vákuumcentrifugával bepároltam, a maradék anyagot 6 M HCl-ben (1% fenollal) feloldottam, és Milestone Ethos One mikrohullámú sütővel hidrolizáltam.

Minden mintát egy Milestone Ethos mikrohullámú roncsolóval emésztettünk fel, kétféle hidrolízis módszerrel, amelyek az összes aminosav elemzéséhez szükségesek voltak. A

hidrolízis hőprofilja a következő volt: a) általános módszer: 10 °C/perc 180 °C-ig, 20 perces inkubáció és hűtés, és b) a triptofán meghatározására szolgáló módszer: 10 °C/perc 180 °C-ig, majd hűtés. A hidrolizált mintákat 5 mL (termékek) vagy 2,5 mL (emésztmények) borát-pufferben (pH = 8,51) vettük fel, szűrtük (22 µm-es HPLC-szűrő) és derivatizáltuk. A derivatizáláshoz 10 µL mintát adtunk 70 µL borát-pufferhez, majd 20 µL Waters AccQTag reagenshez (AQC; 6-aminoquinol-N-hidroxisukcinimidil-karbamát) adtunk és összekevertük. Szobahőmérsékleten 1 perc pihentetés után az elegyet 10 percig 55 °C-on inkubáltuk, majd szűrtük (22 µm-es HPLC-szűrő). Az elválasztáshoz Waters Acquity UPLC H-osztályú készüléket használtunk, amely AccQ UPLC BEH C18 2,1x100 mm, 1,7 mm oszlopot tartalmazott (oszlop hőmérséklete: 43 °C; injektált térfogat: 10 µl; áramlási sebesség: 0,7 ml/perc). A detektáláshoz 260 nm-es PDA detektort használtunk. A minőségi és mennyiségi értékelést aminosav-standardokkal végeztük.

3.2.7. STATISZTIKAI ÉRTÉKEKÉLÉS

A mért eredmények statisztikai értékelését Microsoft Excel szoftver segítségével Student-féle t-próbával és egytényezős varianciaanalízissel végeztem. Szignifikancia szintnek a $p < 0,05$ értéket vettem. A statisztikai próba végrehajtása előtt szóráshomogenitás tesztet hajtottam végre.

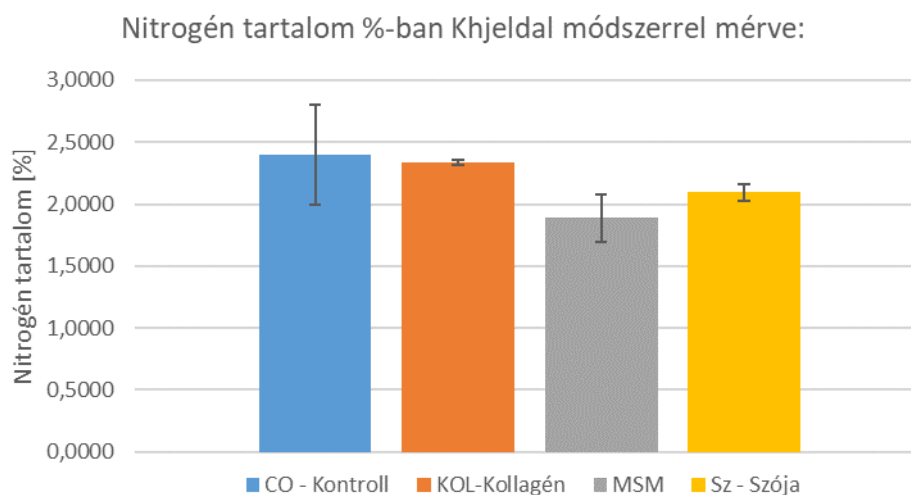
4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

4.1. FEHÉRJEMÉRÉS

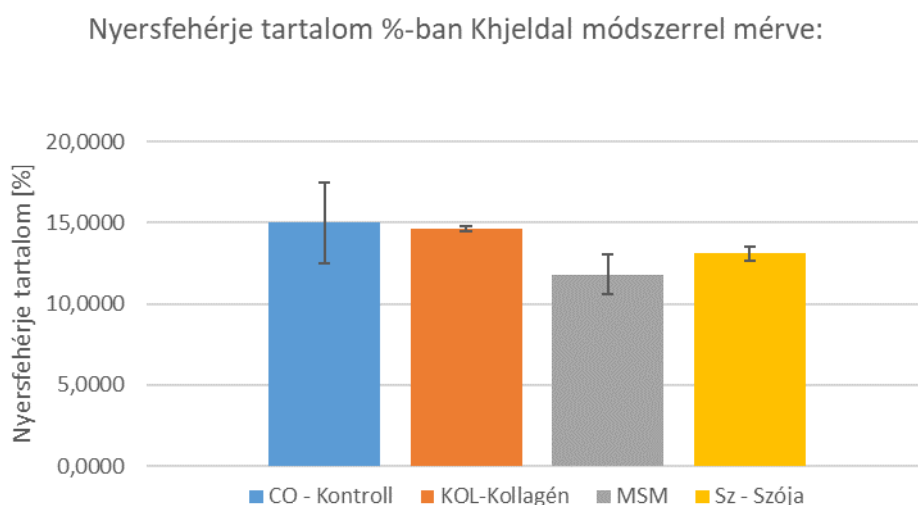
A fehérje mérés során minden mintából 2-2 párhuzamos mérést végeztem. A mért adatokból megfigyelhető, hogy az elméleti dúsítás a gyakorlatban nem a tervezett szerint működött, mivel az 6. ábrán látható módon a nitrogén tartalom (%), illetve a 7. ábrán található nyers fehérje tartalom (%) a kontroll minta esetében volt a legmagasabb. Ennek oka az lehet, hogy a dúsítás megváltoztatta a vörösáru különböző techno-funkciós tulajdonságait, mint a víztartó képességet, így a hőkezelés során kisebb volt a súlyvesztesség. A kisebb tömegcsökkenés hatására arányaiban kevesebb fehérje maradt a mintában.

Az előzetesen vártak megfelelően az MSM alapú vörösáru fehérje tartalma volt a legkevesebb az összes minta közül. Ezen minta a többivel ellentétben jobban kiszáradt a hőkezelés hatására, valamint a magasabb kötőszövet tartalom miatt nehezebben lehetett elroncsolni. Az első mérés esetén az emésztő cső falára ragadt, és odaégett a roncsolás alatt így ezt a mérést meg kellett ismételni.

6. ábra: Nitrogén tartalom %-ban Kjeldahl módszerrel mérve



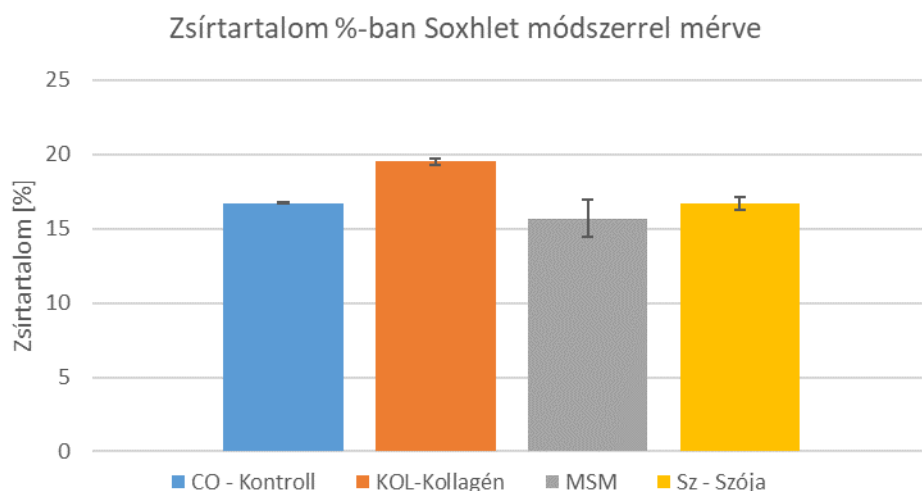
7. ábra: Nyersfehérje tartalom %-ban Kjeldahl módszerrel mérve



4.2. ZSÍRTARTALOM MÉRÉS

A zsírtartalom mérés során minden mintából 2-2 párhuzamos mérést végeztem. A mért adatok (8. ábra) esetében az előzőekben megfigyelt tendenciával ellentétesen a kollagénnel dúsított minta zsírtartalma magasabb volt, mint a kontroll mintáé, ez is a dúsítás hatására bekövetkező techno-funkciós tulajdonságot változásának köszönhetően történt ugyanis így kevesebb zsír tudott kiválni a hőkezelés alatt. Ebben az esetben is az MSM alapú vörösárunál mért értékek voltak a legalacsonyabbak, ami a hőkezelés hatására történt víz és zsír veszteségre vezethető vissza.

8. ábra: Zsírtartalom %-ban Soxhlet módszerrel mérve

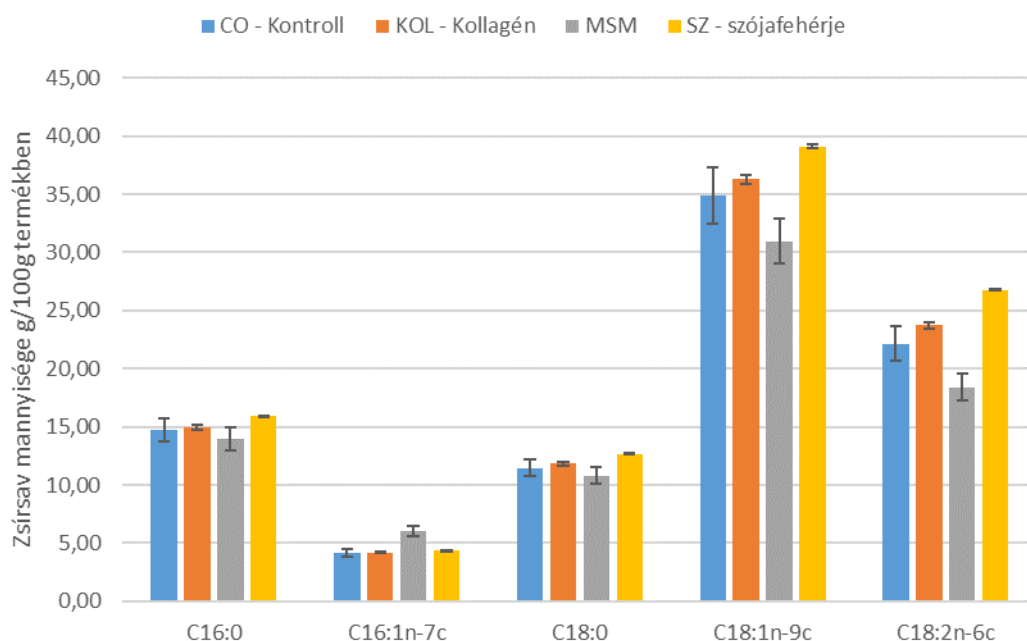


A zsírtartalom esetében mind a párhuzamos a mérések és a minták összehasonlításában kisebb eltéréseket figyelhetők meg, mint a fehérje tartalom mérése esetén.

4.3. ZSÍRSÁVPROFIL

A zsírsavprofilozáshoz az előző módszerben kinyert zsírtartalmat használtam. A különböző zsírsavak esetén hasonló tendencia figyelhető meg (9. ábra). A dúsított minták esetén a különböző zsírsavak mennyisége nagyobb, mint a kontroll minta esetében, azonban az MSM alapú minta esetében alacsonyabb érték tapasztalható szinte minden mért paraméter esetében. A C18:1n-9c és a C18:2n-6c esetében volt a szignifikáns eltérés ez az eredmény itt a p értékek ($p=0,028$; $p=0,004$) voltak. Ez követi az előző esetben mért zsírtartalom értékeket természetesen nem pontosan, mivel mindkét esetben figyelembe kell vennünk párhuzamos mérések szórását, amit az ábrákon meg is jelenik, valamint az esetleges mérési hibák lehetőségét.

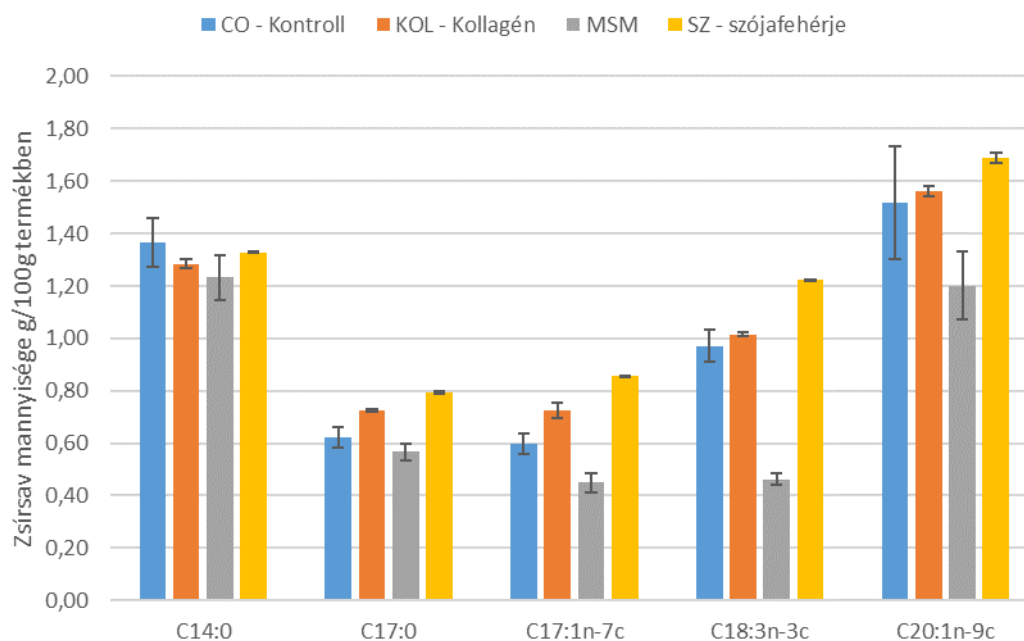
9. ábra: Minták zsírsav összetétele 1.



Ezen esetek alól találhatóak kivételek, ilyen a 9. ábrán látható C16:1n-7c, azaz palmitoleinsav, amely egy egyszeresen telítetlen zsírsav. A statisztikai elemzés után megállapítható, hogy az eltérés szignifikáns ($p=0,004$). A többitől eltérő arányban való jelenlétét az okozhatja, hogy ennek a zsírsavnak az aránya a pulyka fehér húsrészeiben közel kétszerese a vörös húsrészekben található mennyiségnek, ahogy ez Aidyn Igenbayev és munkatársai 2019-es cikkében olvasható (Igenbayev és mtsai. 2019). Azonban ahhoz, hogy ez ebben az esetben is teljes bizonyossággal igazolható legyen, ismerni kellene a pontos pulyka fajtát, amely vágásra került és a faj hújának zsírsavparamétereit az ugyanis jelentősen eltérhet egyes fajok között.

A 10. ábrán látható zsírsavak között is szignifikáns eltérés tapasztalható az egyes minták összetételei között. A C17:1n-7c esetében ($p=0,001$) a C18:3n-3c esetében ($p=8,6 \cdot 10^{-5}$).

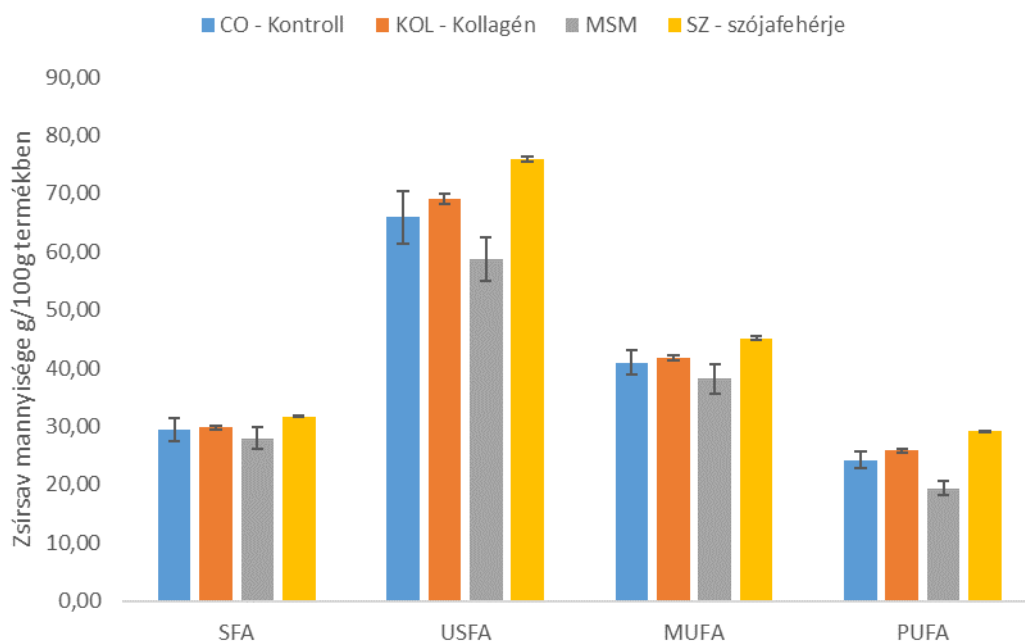
10. ábra: Minták zsírsav összetétele 2.



A minták készítése esetében ugyanis az MSM alapú kivételével mindhárom mintába csak pulyka comb került, ami az vörös hús részéhez tartozik, míg az MSM húst az állat egész testének csontjairól fejtik le, így nagyobb arányban tartalmazhat a fehér húsrészekből.

Az összesített telített és telítetlen zsírsavak esetén (11. ábra) viszont nem található eltérés az előzőekben megfigyelt mintázattól, ott minden esetben az MSM alapú zsírsav-tartalom a legalacsonyabb – hasonlóan az összes zsírtartalomhoz –, míg a dúsított mintáké magasabb volt, mint a kontrollnál mért értékek, szignifikáns eltérés az USFA és a PUFA esetén volt megfigyelhető a p értékek a következők ($p=0,019$; $p=0,002$) voltak.

11. ábra: Összesített telített és telítetlen zsírsavak mennyisége százalékban



4.4. FEHÉRJEMINŐSÉG MEGHATÁROZÁSA

A fehérjeminőség meghatározásához elsőként az *in vitro* emésztést végeztem el. Az emésztés során az MSM alapú minta viselkedése eltért a többi mintától, ugyanis ebben az esetben az emésztmény nem süllyedt le az emésztőcső aljára ahogyan a többi minta esetében történt, hanem lebegett annak tetején. Az aminosav összetételt, emésztés előtt és után is vizsgáltam, majd ebből került megállapításra az emészthetőség, és a fehérjeminőség. A minták kiindulási aminosav profilja a 6. táblázatban látható.

6. táblázat: A minták aminosav tartalma emésztés előtt (mg aminosav/100g termék)

	CO	Szórás	MSM	Szórás	KOL	Szórás	SZ	Szórás
His	406,24	40,08	464,08	9,71	303,47	33,10	476,31	94,61
Ser	660,85	61,58	757,69	37,41	493,37	67,11	862,44	207,23
Arg	1163,84	90,35	1639,07	82,82	964,42	140,31	1341,70	309,04
Gly	906,65	51,92	2855,41	499,13	1271,33	313,65	944,27	168,31
Asp	1157,34	53,20	1160,40	25,17	790,32	196,82	1276,18	260,59
Glu	1955,90	114,75	1943,34	40,84	1338,00	313,01	2226,39	483,11
Thr	729,24	65,51	713,11	37,05	502,62	50,18	836,82	200,35
Ala	985,70	66,53	1557,78	159,71	870,01	183,69	1023,37	203,44
Pro	725,58	45,97	1742,60	249,97	838,05	193,65	833,90	168,67
Cys	68,23	6,43	74,11	20,37	49,59	6,37	119,64	23,73
Lys	1377,79	99,09	1163,01	44,79	879,96	157,96	1421,96	306,91
Tyr	550,76	46,90	461,41	45,00	353,02	24,36	639,78	152,02
Met	438,14	38,68	382,39	16,29	286,40	50,93	444,49	100,12
Val	893,67	69,64	877,41	8,63	613,58	81,39	970,59	224,80
Ile	855,45	69,22	723,77	41,93	549,48	63,96	939,47	212,04
Leu	1331,04	111,35	1237,35	60,58	893,25	105,51	1510,10	346,05
Phe	692,61	58,94	722,60	17,09	491,39	59,60	831,67	198,50
Trp	101,61	4,79	29,68	3,58	45,36	3,10	80,03	10,27
SZUM	15000,64	1085,36	18505,21	715,22	11533,60	2038,49	16779,11	3669,78
SAA	506,37	45,11	456,49	36,66	335,99	57,31	564,13	123,86
AAA	1243,37	105,84	1184,02	62,09	844,41	83,95	1471,45	350,51

A kiindulási aminosav eredményekből látható, hogy a mért értékek bizonyos esetekben jelentős mértékben eltérnek a kontroll minta értékeitől. Különösen igaz ez a dúsított minták esetében, hiszen itt a glicin esetében a kollagénnel és az MSM-el készült mintában a magasabb a mennyisége a többi mintához hasonlítva, eltérése szignifikáns ($p=0,0091$), ez köszönhető a kollagénpor kontroll terméktől egy nagyságrenddel magasabb glicin tartalmának, ugyanezen eltérés ugyanezen okból megfigyelhető a prolin esetében is, itt a p érték ($p=0,015$), míg a leucin esetében a szójával dúsított mintában mértem magasabb értékeket, amely a szójapor magas leucin tartalmának köszönhető, azonban itt nem mutat szignifikáns eltérést.

Az MSM alapú minta esetében sok érték jelentős eltérést mutatott a kontroll mintával szemben, ilyen volt a glicin, amelynek értéke a kontroll minta háromszorosát is meghaladta, az alanin és prolin értékei is magasabbak voltak, mint a kontroll mintáé. Ez a megnövekedett érték a kollagénnel való dúsítás eredményeképpen is megfigyelhető, így elmondható, hogy ezek megnövekedett száma arra utal, hogy az egyéb állati húsrészek nagy mennyiségben tartalmazzák a korábban említett aminosavakat.

A minták fehérjeminőségének meghatározásának céljából emésztésszimulációt követően meghatároztam az egyes aminosavak emészthetőségét, illetve ez alapján az egyes termékek fehérjeemészthetőségét is.

A teljes fehérje emészthetőség adatain látszik (7. táblázat) hogy az egyes minták esetén ez a szám megközelítette, sőt meg is haladta ezt a 100%-ot ez a dúsított minták esetén igen magas értékeket jelent, amely vélhetően a különböző mérések hibahatáron belüli hibáinak összeadódása eredményezi a végső számítás során.

7. táblázat: Az összes fehérje emészthetőség (IVPD%) a különböző minták esetén

	IVPD%
CO	96,5
MSM	76,4
KOL	102,4
SZ	122,3

Az emésztés utáni minták aminosav profiljának ismeretében kiszámíthatóvá vált a különböző fehérjék minőségének meghatározása a DIAAS mutatószáma alapján. A kiszámítás után megkaptuk a különböző minták összetételének emésztésre gyakorolt hatását. Ennek adatai az alábbiakban láthatóak.

A számolás során először a referencia aminosav összetételhez viszonyított limitáló aminosavak megállapítására volt szükség, mely során az alábbi táblázat értékei szolgáltak referencia értéként. A 8. táblázatban a FAO/WHO által meghatározott referencia fehérjében található esszenciális aminosav mennyisége található.

8. táblázat: Esszenciális aminosav a referencia fehérjében (mg/g fehérje) FAO/WHO/ UNU 1985-ös cikke alapján

Esszenciális AS a referencia fehérjében (mg/g fehérje) *		
Csecsemő (0-6 hónap)	Gyermek (6-36 hónap)	Idősebb gyermek, felnőtt
21	20	16
55	32	30
96	66	61
69	57	48
33	27	23
94	52	41
44	31	25
17	8,5	6,6
55	43	40

A kontroll minta esetében a mért DIAAS eredmények a 9. táblázatban láthatóak DIAAR (Digestible Indispensable Amino Acid Ratio) adatokból számíthatóak. A táblázat első oszlopában látható a vizsgált aminosav, vagy aminosavak a második oszlopban a valódi ileális EAA emészthetőség mutatószáma a (TIIAAD – true ileal Indispensable amino acid digestibility) mg aminosav/100g termékből számolva a következő oszlop a TIIAAD és a termék aminosav tartalmának mg aminosav/g fehérje szorzatát tartalmazza (TIDIAAC – true ileal digestibility Indispensable amino acid content). A táblázat második fele ezen emészthetőségi paraméterek alapján megmutatják az egyes 8. táblázatban látható korcsoportok esetén a limitáló aminosav tartalmát. Itt megállapítható, hogy minden korcsoport esetében a leucin volt a limitáló aminosav és az értéke a következőképpen alakult a limitáló aminosav esetében: 79% a csecsemők között, 114% a gyermekek között, 124% az idősebb gyermek és felnőtt kategóriában. Ezután a termék fehérjeminősége csak a csecsemők esetén nem volt megfelelő.

9. táblázat: DIAAR értékek a Kontroll minta esetében

Limitáló AA az emésztményben			DIAAR		
	TIIAAD	TIDIAAC	1	2	3
His	1,10	29,7	1,42	1,49	1,86
Ile	0,92	52,4	0,95	1,64	1,75
Leu	0,85	75,5	0,79	1,14	1,24
Lys	0,81	74,8	1,08	1,31	1,56
SAA(metionin+cisztein)	0,94	31,7	0,96	1,17	1,38
AAA (tirozin+fenilalanin)	1,26	104,6	1,11	2,01	2,55
Thr	1,15	55,9	1,27	1,80	2,23
Trp	1,00	18,0	1,06	2,12	2,73
Val	1,01	59,9	1,09	1,39	1,50

Az MSM alapú minta esetében a DIAAS értékek nagyon hasonlóak a kontroll esetében mértekkel a limitáló aminosav tekintetében, amely itt is minden korcsoport esetében a leucin volt, 79% a csecsemők, 115% a gyermekek, 124% az idősebb gyermek és felnőtt kategóriájában. Ezeket az adatokat segítségével megállapítható, hogy az MSM hús alkalmazása, így az azzal történő dúsítás vagy MSM alapú termék készítése a DIAAS érték megállapításával nem kimutatható.

10. táblázat: DIAAR értékek az MSM alapú minta esetében

Limitáló AA az emésztményben			DIAAR		
	TIIAAD	TIDIAAC	1	2	3
His	0,78	30,5	1,45	1,53	1,91
Ile	0,83	50,7	0,92	1,58	1,69
Leu	0,72	75,7	0,79	1,15	1,24
Lys	0,80	79,2	1,15	1,39	1,65
SAA(metionin+cisztein)	0,82	31,5	0,96	1,17	1,37
AAA (tirozin+fenilalanin)	1,22	122,3	1,30	2,35	2,98
Thr	1,01	61,2	1,39	1,97	2,45
Trp	1,00	16,6	0,98	1,95	2,52
Val	0,89	65,9	1,20	1,53	1,65

A kollagénnel dúsított minta esetében a DIAAS értékek eltérést mutatnak a kontroll esetében mértékekkel szemben. A limitáló aminosav tekintetében azonban egyezés áll fenn, amely itt is minden korcsoport esetében a leucin volt. Az érték 96% a csecsemők, 140% a gyermekek és 152% az idősebb gyermek és felnőtt kategóriájában. Ezáltal elmondható, hogy a dúsítás eredményére minden korosztályban növekedett a DIAAS, méghozzá rendre, 21%, 21% és 22%-kal a kontroll mintákéhoz képest. Az eltérések azt eredményezik, hogy a kollagénnel való dúsítás hatására a fehérjeminőség jelentősen megváltozik, ezáltal az ilyen fajta hamisítás ezen módszer segítségével kimutatható.

11. táblázat: DIAAR értékek kollagén porral dúsított minta esetében

Limitáló AA az emésztményben			DIAAR		
	TIIAAD	TIDIAAC	1	2	3
His	1,36	41,8	1,99	2,09	2,61
Ile	0,95	66,0	1,20	2,06	2,20
Leu	0,83	92,4	0,96	1,40	1,52
Lys	0,85	96,7	1,40	1,70	2,02
SAA(metionin+cisztein)	0,98	42,0	1,27	1,56	1,83
AAA (tirozin+fenilalanin)	1,43	149,5	1,59	2,88	3,65
Thr	1,22	78,0	1,77	2,52	3,12
Trp	1,00	19,5	1,15	2,29	2,95
Val	1,07	78,8	1,43	1,83	1,97

A szójjával dúsított minta esetében mért DIAAS értékek mutatják a legnagyobb eltérést a kontroll esetében mértekkel szemben. A limitáló aminosav tekintetében azonban egyezés áll fenn, amely itt is minden korcsoport esetében a leucin volt. Az érték 105% a csecsemők, 153% a gyermekek és 166% az idősebb gyermek és felnőtt kategóriában, ami rendre 33%, 34% és 34%-os növekedést jelentett a DIAAS értékben.

12. táblázat: DIAAR értékek szója porral dúsított minta esetében

Limitáló AA az emésztményben			DIAAR		
	TIIAAD	TIDIAAC	1	2	3
His	1,13	41,0	1,95	2,05	2,56
Ile	0,86	61,6	1,12	1,93	2,05
Leu	0,88	101,0	1,05	1,53	1,66
Lys	1,18	128,2	1,86	2,25	2,67
SAA (metionin+cisztein)	1,33	57,4	1,74	2,12	2,49
AAA (tirozin+fenilalanin)	1,27	143,2	1,52	2,75	3,49
Thr	1,20	76,7	1,74	2,47	3,07
Trp	1,00	24,0	1,41	2,82	3,63
Val	1,19	88,0	1,60	2,05	2,20

Ezáltal elmondható, hogy a dúsítás eredményére minden vizsgált korosztályban meghaladta a 100%-ot. Az eltérések azt eredményezik, hogy a szójával való dúsítás hatására a fehérjeminőség megváltozik, tehát az ilyen fajta hamisítás, ezen módszer segítségével kimutatható. Ez annak is köszönhető, hogy a szója aminosav profilja jelentősen eltér a hústermékekétől, így az ezzel történő dúsítás nagyobb változást okoz az aminosav összetételben.

Mivel a DIAAS értékhez kapcsolódó limitáló aminosav minősége nem változott a különböző alapanyag használat hatására, így a következőkben a másik jellemzően használt fehérjeminőség mutatót is meghatároztam, és ellenőriztem, hogy a termékek limitáló aminosava esetleg változik-e, és ha igen, akkor ez alkalmas-e a hamisítás beazonosítására.

A PDCAAS érték minden esetben meghaladta az 1-et, mivel ezen mutató szám esetében az úgynevezett csonkolást kell alkalmazni (ez a szakirodalmi részben részletesen kifejtésre került), így ennek értéke minden minta minden korcsoportja esetében 1 volt. Azonban a limitáló aminosav tekintetében eltérések figyelhetők meg a különböző minták között. Fontos megjegyezni, hogy a PDCAAS és a DIAAS esetében a korcsoportok, és a számoláshoz alkalmazott referencia aminosav értékek nem egyeznek meg. Az összehasonlítás eredményeként kapott limitáló aminosavak a 13. táblázatban is láthatók.

13. táblázat: Limitáló aminosavak PDCAAS esetén

Termékkód	Gyermek (2-5 éves)	Iskoláskorú gyermek (10-12 éves)	Felnőtt
CO	AAA (tirozin+fenilalanin)	hisztidin	hisztidin
MSM	SAA(metionin+cisztein)	SAA(metionin+cisztein)	SAA(metionin+cisztein)
KOL	hisztidin	hisztidin	hisztidin
SZ	leucin	hisztidin	hisztidin

A termékek limitáló aminosava a vizsgált mintákban eltér az emésztést limitáló aminosavtól. Ez az iskolás korú gyermek és a felnőtt korcsoportban egyforma aminosavakat jelent, még hozzá a hisztidint (kontroll termék, kollagén és szója dúsított termékek) és a kéntartalmú (MSM) aminosavakat. Az előző részben kiderült, hogy a DIAAS mutató egyedül az MSM húsból készült termék azonosítására nem alkalmas, így ez az adat alkalmas lehet az MSM húsból készült termék azonosítására, emésztésszimuláció nélkül is.

Emellett a gyermek kategóriában az összes termék esetén különböző limitáló aminosavak figyelhetők meg. Így a PDCAAS ezen adata – vagyis a termékek limitáló aminosava – alapján, ennek a csoportnak a szükségleteit figyelembe véve azonosíthatók az egyes termékek, és az alapanyagok különbözőségének hatása.

Ugyan annak eldöntése, hogy ezek az eredmények reprezentatívak-e másféle hús alapanyagból (például sertés vagy marha) készült hústermékek esetén is, további vizsgálatokra volna szükség, azonban ezen kísérletek eredménye egyértelműen mutatja, hogy a mérések együttes és egyedi eredményei alapján is nagy valószínűséggel azonosíthatók a hamisított hústermékek.

5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A dolgozatom eredményei alapján elsődlegesen arra a megállapításra jutottam, hogy a fehérjetartalom növelésére irányuló dúsítás nem minden esetben valósult meg, ugyanis a különböző dúsító porok hozzáadásával, a fehérjetartalom mellett a termékek techno-funkciós tulajdonságai is megváltoztak, ezáltal növelve a hőkezelés során a víztartókéességét, ami ez kihatással volt a dúsított termékek víztartalmára, valamint zsír-, és fehérjetartalmára is.

A zsírtartalom esetében a dúsított minták értékei magasabbak voltak, mint a kontroll mintáé, annak köszönhetően, hogy a hőkezelés alatt a víz mellett több zsír is a mintában maradt. A dúsított minták esetében továbbá az egyes zsírsavak mennyisége is nagyobb volt, mint a kontroll mintáé. Ezzel ellentétben az MSM termék zsírtartalma a legkisebb érték volt. Az MSM termék esetén a zsírsavak mennyisége általánosan kisebb volt, mint a többi termékben, egyetlen zsírsav kivételével, mely az MSM mintában volt a legnagyobb érték. Ennek oka a pulyka különböző húsrészeinek eltérő zsírsavprofilja lehetett. Az MSM hús ezen jellegzetessége miatt ez a termék akár zsírsav profil alapján is azonosítható lehet.

Az MSM hússal való munka a vártnál is nehezebbnek bizonyult ugyanis viselkedése jobban eltér a húsétól, mint arra előzetesen számítani lehetett, ebben az esetben egy gyengébb minőségű terméket kaptunk mind beltartalmi, mind techno-funkciós tulajdonságok szempontjából. A kisebb zsírtartalom mellett az MSM termék fehérje tartalma is a legkisebbnek bizonyult.

Az aminosav profilozás eredménye alapján megállapítható, hogy a különböző minták emészthető aminosav tartalma bizonyos esetben jelentős tér el egymástól és a kontroll mintától is. Így a hamisítás a dúsított minták esetén megállapítható a fehérjeminőségmutatók (DIAAS, PDCAAS) alapján. Az MSM minta emészthető aminosav profilja nem tért el a kontrolltól, a korábban említett zsírsav profillal ellentétben, azonban a PDCAAS számoláshoz használt 1. korcsoport referencia aminosav profiljához viszonyított limitáló aminosava alapján megkülönböztethető a többi mintától.

A jövőben a módszer megfelelő alkalmazásához további vizsgálatok elvégzésére van szükség, amely vizsgálja a különböző dúsítási módok esetén az ezen mérés során alkalmazottól eltérő dúsítási arányok hatását a DIAAS érték alakulására, valamint szükséges lehet egyéb dúsításra alkalmas anyagok – például vérpor vagy a tejpor – vagy más hús alapanyagok – sertés vagy marha – vizsgálata.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A dolgozatom célja a hamisítási szándékkal alkalmazott magas fehérjetartalmú készítmények (kollagén por és szója fehérje) felhasználásával gyártott, valamint MSM (mechanikusan lefejtett hús) alapú vöröshúsáruk fehérjeminőségének meghatározása *in vitro* emésztésszimulációt követően, valamint a kiegészítés fehérjeminőségre gyakorolt hatásának feltárása és számszerűsítése volt. Erre a célra a nemzetközileg elfogadott fehérjeminőség mutató, a DIAAS meghatározása és alkalmazása szolgálhat az összehasonlítás alapjaként, ezáltal lehetőséget nyújtva a hamisítás lehetséges kimutatására.

A különböző hamisítási módok kimutatására módszer kidolgozása fontos szerepet tölthet be, a jövőben ugyanis a jelenleg egymást érő gazdasági válsághelyzetek hatására erősödhet a megfelelő fehérje ellátás nehézségei. Így az egyes gazdasági szereplők a hamisítás felé fordulhatnak a nagyobb profit szerzés reményében.

A mérésekhez négy féle mintát készítettem egy kontroll – pulyka darált húsból készült – mintát, egy MSM alapú mintát, amely nem tartalmazott egyéb fehérjeforrást, valamint két hús összetételben a kontrollal megegyező, de fehérjeporral dúsított mintát. Ehhez az egyik esetben szója fehérjeport, míg a másikban kollagén port használtam. A minták gyártásánál az MSM és a többi minta esetében alkalmazott pulyka comb egy vágási napon egy állományból származtak. Az elkészült mintákat készítésük után fagyasztva tároltam (-80 °C-on) a további kísérletek elvégzéséig.

Az eredmények alapján elmondható, hogy a fehérjetartalom növelésére irányuló dúsítás nem minden esetben valósult meg, ugyanis a különböző dúsító porok hozzáadásával a fehérjetartalom mellett megváltozott a termékek techno-funkciós tulajdonságait, ezáltal növelve a hőkezelés során a víztartó képességét ez kihatással volt a dúsított termékek víztartalmára. Így alakult ki az, hogy a dúsított termékek esetében a 100 grammra viszonyított fehérjetartalom alacsonyabb volt, mint a kontroll minta esetében.

A zsírtartalom esetében a dúsított minták értékei magasabbak voltak, mint a kontroll mintáé annak köszönhetően, hogy a hőkezelés alatt a víz mellett több zsír is a mintában maradt. A zsírsavprofilozás eredményeit áttekintve elmondható, hogy a dúsított minták esetében magasabb értékek voltak megfigyelhetőek, mint a kontroll mintáé. Az MSM termék zsírtartalma ezzel ellentétben a legkisebb érték volt. Az MSM termék esetén a zsírsavak mennyisége általánosan alacsonyabb volt, mint a többi termékben, egy zsírsav kivételével, mely az MSM mintában volt a legnagyobb érték. Ennek oka a pulyka különböző húsrészeinek eltérő zsírsavprofilja miatt alakulhatott ki. Az MSM hús ezen jellegzetessége miatt ez akár zsírsav profil alapján is azonosítható termék lehet. A kisebb zsírtartalom mellett az MSM termék fehérje tartalma is a legkisebbnek bizonyult.

A fehérjeminőség meghatározása során elvégzett aminosav profilozás eredményei alapján megállapítható, hogy a különböző minták aminosav tartalma bizonyos esetben jelentős tér el egymástól és a kontroll mintától is. A DIAAS érték kiszámítása után megállapítható, hogy a dúsított minták számértékei – de a limitáló aminosava nem – jelentősen eltérnek a kontroll mintáétól, így ebben az esetben a hamisítás kimutatására alkalmas lehet. Azonban ez a trend az MSM termék esetén nem mutatkozik, mind a számérték, mind a limitáló aminosav azonos a kontroll mintáéhoz. Az MSM termék azonosítására a zsírsav profil mellett, alternatíva lehet a termékek limitáló aminosavának meghatározása, melyben ez a termék kitűnik a többi közül, vagyis a többi terméktől eltérő limitáló aminosavval rendelkezik.

IRODALMJEGYZÉK

- Allowances, National Research Council (US) Subcommittee on the Tenth Edition of the Recommended Dietary. 1989. *Protein and Amino Acids. Recommended Dietary Allowances: 10th Edition*. National Academies Press (US).
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK234922/>.
- Armstrong, David J. 2009. „Food Chemistry and U.S. Food Regulations”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57 (18): 8180–86. <https://doi.org/10.1021/jf900014h>.
- Ballin, N. Z. 2010. „Authentication of Meat and Meat Products”. *Meat Science* 86 (3): 577–87. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.06.001>.
- Belloque, J., M. C. García, M. Torre, és M. L. Marina. 2002. „Analysis of Soyabean Proteins in Meat Products: A Review”. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 42 (5): 507–32. <https://doi.org/10.1080/20024091054238>.
- „Biochemistry, Essential Amino Acids. In: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL); 2022. PMID: 32496725.” é. n.
- Boisseau, N., C. Le Creff, Loyens M., és Poortmans J. 2002. „Protein intake and nitrogen balance in male non-active adolescents and soccer players”. *European Journal of Applied Physiology* 88 (3): 288–93. <https://doi.org/10.1007/s00421-002-0726-x>.
- Boye, Joyce, Ramani Wijesinha-Bettoni, és Barbara Burlingame. 2012. „Protein Quality Evaluation Twenty Years after the Introduction of the Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score Method”. *British Journal of Nutrition* 108 (S2): S183–211. <https://doi.org/10.1017/S0007114512002309>.
- Brod, Fábio CA, és Ana CM Arisi. 2007. „Recombinant DNA in Meat Additives: Specific Detection of Roundup Ready™ Soybean by Nested PCR”. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87 (10): 1980–84. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2959>.
- Brodkorb, André, Lotti Egger, Marie Alminger, Paula Alvito, Ricardo Assunção, Simon Ballance, Torsten Bohn, és mtsai. 2019. „INFOGEST Static in Vitro Simulation of Gastrointestinal Food Digestion”. *Nature Protocols* 14 (4): 991–1014. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1>.
- Brooks, Christopher, Lesley Parr, Jordan M. Smith, Dominic Buchanan, Dominika Snioch, és Essam Hebishy. 2021. „A review of food fraud and food authenticity across the food supply chain, with an examination of the impact of the COVID-19 pandemic and Brexit on food industry”. *Food Control* 130 (december): 108171. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108171>.
- Castro, F., M. C. García, R. Rodríguez, J. Rodríguez, és M. L. Marina. 2007. „Determination of Soybean Proteins in Commercial Heat-Processed Meat Products Prepared with Chicken, Beef or Complex Mixtures of Meats from Different Species”. *Food Chemistry* 100 (2): 468–76. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.067>.
- Choudhary, Ankita, Neeraj Gupta, Fozia Hameed, és Skarma Choton. 2020. „An overview of food adulteration: Concept, sources, impact, challenges and detection”. *International Journal of Chemical Studies* 8 (január): 2564–73. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i1am.8655>.
- Csapó János, Csapóné Kiss Zsuzsanna, és Albert Csilla. 2007. *Élelmiszer-fehérjék minősítése*. Kolozsvár: Scientia Kiadó. <http://real.mtak.hu/117471/>.
- Damodaran, Srinivasan. 2019. *Food Proteins and Their Applications*. Boca Raton: CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780203755617>.
- Demirhan, Yasemin, Pelin Ulca, és Hamide Z. Senyuva. 2012. „Detection of Porcine DNA in Gelatine and Gelatine-Containing Processed Food Products—Halal/Kosher Authentication”. *Meat Science* 90 (3): 686–89. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.10.014>.
- Djagny, Kodjo Boady, Zhang Wang, és Shiyang Xu. 2001. „Gelatin: A Valuable Protein for Food and Pharmaceutical Industries: Review”. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 41 (6): 481–92. <https://doi.org/10.1080/20014091091904>.
- Dupont, Didier, Alessandra Bordoni, Andre Brodkorb, Francesco Capozzi, Tanja Cirkovic Velickovic, Milena Corredig, Paul D. Cotter, és mtsai. 2011. „An International Network for Improving

- Health Properties of Food by Sharing Our Knowledge on the Digestive Process". *Food Digestion* 2 (1): 23–25. <https://doi.org/10.1007/s13228-011-0011-8>.
- Fernández-García, Elisabet, Irene Carvajal-Lérída, és Antonio Pérez-Gálvez. 2009. „In vitro bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency". *Nutrition Research* 29 (11): 751–60. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2009.09.016>.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations, szerk. 2013. *Dietary Protein Quality Evaluation in Human Nutrition: Report of an FAO Expert Consultation, 31 March-2 April, 2011, Auckland, New Zealand*. FAO Food and Nutrition Paper 92. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Fukushima, Danji. 1991. „Recent Progress of Soybean Protein Foods: Chemistry, Technology, and Nutrition". *Food Reviews International* 7 (3): 323–51. <https://doi.org/10.1080/87559129109540915>.
- Gaudichon, Claire, Cécile Bos, Céline Morens, Klaus J. Petzke, François Mariotti, Julia Everwand, Robert Benamouzig, Sophie Daré, Daniel Tomé, és Cornelia C. Metges. 2002. „Ileal losses of nitrogen and amino acids in humans and their importance to the assessment of amino acid requirements". *Gastroenterology* 123 (1): 50–59. <https://doi.org/10.1053/gast.2002.34233>.
- Gómez-Guillén, M. C., B. Giménez, M. E. López-Caballero, és M. P. Montero. 2011. „Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review". *Food Hydrocolloids, 25 years of Advances in Food Hydrocolloid Research*, 25 (8): 1813–27. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.02.007>.
- „Horse DNA found in some beef burger products". é. n. Elérés 2023. február 28. <https://www.fsai.ie/details.aspx?id=11878>.
- Hou, Yongqing, és Guoyao Wu. 2018. „Nutritionally Essential Amino Acids". *Advances in Nutrition* 9 (6): 849–51. <https://doi.org/10.1093/advances/nmy054>.
- Igenbayev, A., E. Okuskhanova, A. Nurgazezova, Y. Rebezov, S. Kassymov, G. Nurymkhan, D. Tazeddinova, I. Mironova, és M. Rebezov. 2019. „Fatty Acid Composition of Female Turkey Muscles in Kazakhstan". *Journal of World's Poultry Research* 9 (2): 78–81.
- Johnson, Renée. 2014. „Food Fraud and »Economically Motivated Adulteration« of Food and Food Ingredients", január.
- Joye, Iris. 2019. „Protein Digestibility of Cereal Products". *Foods* 8 (6): 199. <https://doi.org/10.3390/foods8060199>.
- Karim, A. A., és Rajeev Bhat. 2008. „Gelatin Alternatives for the Food Industry: Recent Developments, Challenges and Prospects". *Trends in Food Science & Technology* 19 (12): 644–56. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.08.001>.
- Kft, Wolters Kluwer Hungary. é. n. „2008. Évi XLVI. Törvény Az Élelmiszerláncról És Hatósági Felügyeletéről - Hatályos Jogszabályok Gyűjteménye". Elérés 2023. február 27. <https://net.jogtar.hu/jogszabaly?docid=a0800046.tv>.
- Leser, S. 2013. „The 2013 FAO Report on Dietary Protein Quality Evaluation in Human Nutrition: Recommendations and Implications". *Nutrition Bulletin* 38 (4): 421–28. <https://doi.org/10.1111/nbu.12063>.
- Liu, Dasong, Li Liang, Joe M. Regenstein, és Peng Zhou. 2012. „Extraction and characterisation of pepsin-solubilised collagen from fins, scales, skins, bones and swim bladders of bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*)". *Food Chemistry, Advances in Potato Chemistry, Nutrition and Technology*, 133 (4): 1441–48. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.032>.
- Liu, Wentao, Guoying Li, Yuqing Miao, és Xiaohua Wu. 2009. „Preparation and Characterization of Pepsin-Solubilized Type I Collagen from the Scales of Snakehead (*Ophiocephalus Argus*)". *Journal of Food Biochemistry* 33 (1): 20–37. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2008.00207.x>.
- Lopez, Michael J., és Shamim S. Mohiuddin. 2022. „Biochemistry, Essential Amino Acids". In *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557845/>.

- Minekus, M., M. Alminger, P. Alvito, S. Ballance, T. Bohn, C. Bourlieu, F. Carrière, és mtsai. 2014. „A Standardised Static in Vitro Digestion Method Suitable for Food – an International Consensus”. *Food & Function* 5 (6): 1113–24. <https://doi.org/10.1039/C3FO60702J>.
- Moughan, P. J., W. C. Smith, és K. A. C. James. 1984. „Preliminary observations on the use of the rat as a model for the pig in the determination of apparent digestibility of dietary protein”. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 27 (4): 509–12. <https://doi.org/10.1080/00288233.1984.10418012>.
- Nakyinsige, Khadijah, Yaakob Bin Che Man, és Awis Qurni Sazili. 2012. „Halal Authenticity Issues in Meat and Meat Products”. *Meat Science* 91 (3): 207–14. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.02.015>.
- O’Mahony, P.J. 2013. „Finding horse meat in beef products—a global problem”. *QJM: An International Journal of Medicine* 106 (6): 595–97. <https://doi.org/10.1093/qjmed/hct087>.
- Peace, Robert W, és G Sarwar Gilani. 2005. „Chromatographic Determination of Amino Acids in Foods”. *Journal of AOAC INTERNATIONAL* 88 (3): 877–87. <https://doi.org/10.1093/jaoac/88.3.877>.
- Putnam, Frank. 2012. *The Plasma Proteins V3: Structure, Function, and Genetic Control*. Elsevier.
- Ridzwan, Mohd. 2015. „Collagen in Food and Beverage Industries”.
- Saguer, Elena, Eduard Dàvila, Mònica Toldrà, Nuri Fort, Sònia Baixas, Carmen Carretero, és Dolors Parés. 2007. „Effectiveness of High Pressure Processing on the Hygienic and Technological Quality of Porcine Plasma from Biopreserved Blood”. *Meat Science* 76 (1): 189–93. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.10.009>.
- Schaafsma, Gertjan. 2005. „The Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Score (PDCAAS)—A Concept for Describing Protein Quality in Foods and Food Ingredients: A Critical Review”. *Journal of AOAC INTERNATIONAL* 88 (3): 988–94. <https://doi.org/10.1093/jaoac/88.3.988>.
- Silvis, I. C. J., S. M. van Ruth, H. J. van der Fels-Klerx, és P. A. Luning. 2017. „Assessment of food fraud vulnerability in the spices chain: An explorative study”. *Food Control* 81 (november): 80–87. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.05.019>.
- Soares, Sónia, Joana S. Amaral, M. Beatriz P. P. Oliveira, és Isabel Mafra. 2014. „Quantitative Detection of Soybean in Meat Products by a TaqMan Real-Time PCR Assay”. *Meat Science* 98 (1): 41–46. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.04.002>.
- Soares, Sónia, Joana S. Amaral, M. Beatriz P.P. Oliveira, és Isabel Mafra. 2013. „A SYBR Green Real-Time PCR Assay to Detect and Quantify Pork Meat in Processed Poultry Meat Products”. *Meat Science* 94 (1): 115–20. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.12.012>.
- Spink, John, és Douglas C. Moyer. 2011. „Defining the Public Health Threat of Food Fraud”. *Journal of Food Science* 76 (9): R157–63. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02417.x>.
- Stein, H. H., B. Sève, M. F. Fuller, P. J. Moughan, és C. F. M. de Lange. 2007. „Invited review: Amino acid bioavailability and digestibility in pig feed ingredients: Terminology and application”. *Journal of Animal Science* 85 (1): 172–80. <https://doi.org/10.2527/jas.2005-742>.
- Tan, Yunbing, Hualu Zhou, és David Julian McClements. 2022. „Application of static in vitro digestion models for assessing the bioaccessibility of hydrophobic bioactives: A review”. *Trends in Food Science & Technology* 122 (április): 314–27. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.02.028>.
- Visciano, Pierina, és Maria Schirone. 2021. „Food frauds: Global incidents and misleading situations”. *Trends in Food Science & Technology* 114 (augusztus): 424–42. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.06.010>.
- Wickham, Martin, Richard Faulks, és Clare Mills. 2009. „In Vitro Digestion Methods for Assessing the Effect of Food Structure on Allergen Breakdown”. *Molecular Nutrition & Food Research* 53 (8): 952–58. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200800193>.
- Wittsiepe, Jürgen, Petra Schrey, Alfons Hack, Fidelis Selenka, és Michael Wilhelm. 2001. „Comparison of different digestive tract models for estimating bioaccessibility of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans (PCDD/F) from red slag ‘Kieselrot’”. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 203 (3): 263–73. [https://doi.org/10.1078/S1438-4639\(04\)70037-1](https://doi.org/10.1078/S1438-4639(04)70037-1).

Wu, Guoyao. 2021. *Amino Acids: Biochemistry and Nutrition*. CRC Press.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom

Dr. Abrankó Lászlónak és Dr. Tormási Juditnak

konzulensi tevékenységeikért, hasznos szakmai javaslataikért és iránymutatásaikért,

Dr. Jónás Gábornak

a termékek gyártásában és az alapanyag beszerzésben nyújtott segítségéért,

a Gallicoop Zrt.-nek

hogy biztosították számomra a mintákhoz szükséges alapanyagot

valamint,

az

Élelmiszerkémia és Analitika Tanszék dolgozóinak

a mérések kivitelezésében nyújtott segítségükért.

NYILATKOZAT

a diplomadolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: Lehota Vilmos
A Hallgató Neptun kódja: SQG24Y
A dolgozat címe: Húskészítmények fehérjetápértékének meghatározása és fehérje kiegészítés hatásának vizsgálata
A megjelenés éve: 2023
A konzulens intézetének neve: Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
A konzulens tanszékének a neve: Élelmiszerkémia és Analitika Tanszék

Kijelentem, hogy az általam benyújtott záródolgozat/szakdolgozat/diplomadolgozat/portfólió¹ egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, és az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

Ha a fenti nyilatkozattal valótlant 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 mindenkor szellemi tulajdon-kezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem könyvtári repozitori rendszerébe. Tudomásul veszem, hogy a megvédett és

- nem titkosított dolgozat a védést követően
- titkosításra engedélyezett dolgozat a benyújtásától számított 5 év eltelte után nyilvánosan elérhető és kereshető lesz az Egyetem könyvtári repozitori rendszerében.

Kelt: Gomba, 2023 év 11 hó 05 nap



Hallgató aláírása

NYILATKOZAT

Lehota Vilmos (név) (hallgató Neptun azonosítója: SQG24Y) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a záródolgozatot/szakdolgozatot/diplomadolgozatot/portfóliót¹ áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A záródolgozatot/szakdolgozatot/diplomadolgozatot/portfóliót a záróvizsgán történő védésre javaslom / nem javaslom².

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem^{*3}

Kelt: 2023 év 11 hó 02 nap


belső konzulens

¹ A megfelelő dolgozattípus meghagyása mellett a többi típus törlendő.

² A megfelelő aláhúzendő.

³ A megfelelő aláhúzendő.