

Élelmiszerek osztályozása illékony molekulák alapján

Doktori (PhD) értekezés tézisei

Papp Zsigmond



Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola
Daganatok molekuláris epidemiológiája program

Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Bogár Lajos

Programvezető: Prof. Dr. Kiss István

Témavezető: Dr. Gyöngyi Zoltán

Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar
Orvosi Népegészségtani Intézet

Pécs, 2025

1. Bevezetés

1.1. Illékony szerves vegyületek

Az illékony szerves vegyületek (volatile organic compounds, VOCs) a természetben is előforduló anyagok, melyekre jellemző a változatos kémiai szerkezet, a kis molekulatömeg, és a természetes körülmények között fellépő párolgás (Rowan, 2011). A volatilomika a biológiai rendszerekben található VOC-k kimutatásával, leírásával és mennyiségi meghatározásával foglalkozó tudomány, amely a metabolomika részterülete (Lytou et al., 2019; Kaldeli et al., 2024). A volatilomikai műszeres analízis legfontosabb elemei a gázkromatográfia (gas chromatography, GC) és a tömegspektrometria (mass spectrometry, MS), de szerepet kapnak benne az olyan multiszenzoros rendszerek is, mint az elektronikus orr (Lytou et al., 2019) és a gázkromatográfiával kapcsolt ionmobilitás spektrometria (gas chromatography–ionmobility spectrometry, GC-IMS) (Wang et al., 2020).

A volatilomikai mérések során hatalmas adatmennyiség keletkezik, melynek vizsgálata többváltozós adatelemzési módszerekkel történik. Az alkalmazott statisztikai módszerek közé tartoznak a főkomponens-analízis (principal component analysis, PCA), lineáris diszkriminanciaanalízis (linear discriminant analysis, LDA) és egyéb statisztikai módszerek (Lytou et al., 2019).

A VOC-k jelentős szerepet játszanak a különböző élelmiszerek aromájának kialakításában (Rowan, 2011; Lytou et al., 2019; Kaldeli et al., 2024). Egy aroma meghatározásához felállítható egy illóanyag-profil, amely értékes információkat hordoz az adott élelmiszer minőségéről (Lytou et al., 2019; Kaldeli et al., 2024). A volatilomika egyik fő iránya e profilok feltérképezése és elemzése, s népszerűségét a gyors, költséghatékony és noninvazív módszereinek köszönheti (Kaldeli et al., 2024).

1.2. Propolisz

A propolisz, vagy más néven méhszurok, egy gyantaszzerű anyag, mely a méhek növényi váladékokból és rügyekből kinyert anyagainak, polleneknek, méhek nyálmirigyei által kiválasztott enzimeknek, és méhviasznak a keverékéből áll (Sforcin, 2016; Anjum et al., 2019). A propolisz külső jegyeiben és kémiai kompozíciójában jelentős eltérések találhatóak származásának helyétől és gyűjtésének időpontjától függően, ezért egységes leírása nehezen valósítható meg (Sforcin, 2016; Anjum et al., 2019; Kasote et al., 2022).

A propolisznak egyre több fitogén összetevőjét azonosítják. Jelenleg ezek közül 800 képviselő ismert, melyek legnagyobb arányban polifenolok (Kasote et al., 2022). A propoliszban található polifenolok legfőbb képviselői a fenolsavak és észterek, valamint a flavonoidok (Sforcin, 2016; Kasote et al., 2022). A propolisz további összetevői közé tartoznak a terpének, kalkonok, aminosavak, cukrok, alkoholok, ketonok, mikro- és makroelemek és vitaminok (Sforcin, 2016; Anjum et al., 2019; Przybyłek és Karpiński, 2019; Kasote et al., 2022).

A propolisz hatása rendkívül komplex, mely összefüggésben áll az összetételével. Ezek közül leginkább az antimikrobás hatást kutatják, azonban tumorelles, immunmodulátoros, gyulladáscsökkentő és sebgyógyító hatását is leírták (Sforcin, 2016). A *Candida albicans* (*C. albicans*) ellenes hatásának feltételezett mechanizmusában a propolisz támadáspontja a sejtmembrán (Corrêa et al., 2020).

A propolisz nehezen megvalósítható standardizálása hátráltatja elterjedését a konvencionális gyógyászatban (Sforcin, 2016). Noha megállapításra kerültek a propolisz gyártását és minőségét meghatározó faktorok, a minőségi előírások és a megfelelő jogszabályi háttér hiánya akadályozza a propolisz alapú termékek világpiacra kerülését (Peixoto et al., 2022). A különböző típusú propoliszok vizsgálata, rendszerezése, kémiai összetevőinek feltárása nélkülözhetetlen a hatásmechanizmusuk megismeréséhez, valamint az új propolisz-tartalmú gyógyszerek előállításához (Sforcin, 2016). Az elektronikus orr használata különböző propoliszok vizsgálata során dokumentált, azonban egyelőre még kiaknázatlan terület.

1.3. Növényi alapú italok

A növényi alapú italok növények, illetve növényi részek vizes kivonatával készített, emberi fogyasztásra szánt folyékony termékek (Pérez-Rodríguez et al., 2023). A növényi alapú italokat sokszor helytelenül a „növényi tej” kifejezéssel illetik, amely néhány kivételtől eltekintve jogilag nem elfogadott (Angelino et al., 2020; Pérez-Rodríguez et al., 2023).

A növényi alapú italokat egyre nagyobb népszerűség jellemzi. A tejtermék-helyettesítők piacának becsült értéke 2022-ben 27,3 milliárd amerikai dollár volt (Pérez-Rodríguez et al., 2023). A gyártók a növekvő fogyasztói igények kielégítését újabb és újabb növényi alapú termékek gyártásával igyekeznek megvalósítani (Angelino et al., 2020). Ebből kifolyólag egyre több fajta növényi alapú ital válik elérhetővé, melyek

ízben, állagban, összetételben és növényi forrásban is eltérnek egymástól (Xie et al., 2023).

A növényi alapú italok összetétele típusonként eltérő lehet nyomelemek, mikronutriensek és makronutriensek tekintetében is (Walther et al., 2022). Továbbá a formulálás során a növényi alapú italokba a gyártó olyan adalékanyagokat (színezőanyagok, ízesítők, tartósítószer, stabilizálószer, sűrítőanyagok) tehet, ami szintén összetételbeli különbségeket fog eredményezni (McClements et al., 2019).

A növényi alapú italok, mint kolloid rendszerek, tönkremehetnek fizikai hatások, kémiai reakciók és mikrobiológiai folyamatok miatt (McClements et al., 2019), továbbá az egyes termékek minősége és stabilitása nagyban különbözhet egymástól (Patra et al., 2021). A nem megfelelő minőségű alapanyagok és az elégtelen sterilizációs eljárások a mikroorganizmusok megtelepedését és elszaporodását okozhatják a növényi alapú italokban (Xie et al., 2023). Továbbá a növényi alapú italokba akár élelmiszer-csalás, akár keresztszennyeződés során súlyos allergiás reakciót okozó anyagok is kerülhetnek (Ning et al., 2024). Ezek alapján jogosan merül fel a növényi alapú italok szigorú minőségellenőrzésének igénye gyártás alatt, gyártás során és gyártás előtt is.

A növényi alapú italok minőség-ellenőrzésének alkalmazott eszközei a nagy teljesítményű folyadékkromatográfia (high-performance liquid chromatography, HPLC), a GC és az MS (Basile et al., 2023). Ezek kiegészülhetnek kisebb költségű, komplementer analitikai módszerekkel (Basile et al., 2023). A jelenlegi adatok szerint a növényi alapú italok minőség-ellenőrzésében a volatilomika és az elektronikus orr használata egyelőre kiaknázatlan terület.

2. Célkitűzések

2.1. Propolisz minták elkülönítése antifungális aktivitásuk alapján

Vizsgálatunk célja 4 különböző magyar településről származó propolisz-minta csoportosíthatóságának megállapítása volt a korábban meghatározott antifungális aktivitásuk alapján elektronikus orral és GC-MS-sel.

2.2. Növényi alapú italok elkülönítése összetétel, típus és gyártó alapján

Vizsgálatunk során 111 növényi alapú ital analízisét tűztük ki célul GC-IMS és elektronikus orr alkalmazásával. Célunk annak felderítése volt, mennyire különíthetők el egymástól az egyes növényi alapú italok összetétel, típus, és gyártó alapján.

3. Anyagok és módszerek

3.1. Propolisz minták elkülönítése antifungális aktivitásuk alapján

3.1.1. Nyers propolisz minták gyűjtése és etanolos kivonatainak előállítása

Vizsgálatunk elvégzéséhez nyers, nyárfa-eredetű propolisz gyűjtése valósult meg 2015-ben, négy különböző magyarországi területről: Csikóstóttós (CS), Héhalom (HE), Somogybabod (SO), és Szolnok (SZ). A minták őrlés után kivonatolásra kerültek: 100 g propolisz minta 450 ml 80 %-os etanol-oldattal lett extrahálva 30 percig, 70 °C-os vízfürdőn. Az etanolos kivonatok sterilizése 0,22 mm pórusméretű szűrőn (Millipore, Burlington, MA, Amerikai Egyesült Államok) történt úgy, hogy 222,2 mg/ml koncentrációjú törzsoldatok jöttek létre. Az összes etanolos propolisz-kivonat (EPK) sötétben, 4 °C-on került tárolásra (Alencar et al., 2007).

3.1.2. Antifungális teszt

A *C. albicans* ATCC 44829 érzékenységét a négy különböző EPK-val szemben a CLSI M27-A2 szabvány (Torres-Rodríguez és Alvarado-Ramírez, 2007) tápleves-mikrodilúciós módszerével került meghatározásra, fenntartva a törzsoldat 80 %-os (v/v) etanol-koncentrációját. Kontrollnak a 80 %-os (v/v) etanol volt alkalmazva. A törzsoldat a táptalaj 1 %-át tette ki, ami 0,8 %-os (v/v) végső etanol-koncentrációt eredményezett mind a kezelt, mind a kontroll oldatokban. A sejt kultúra élesztőkivonat-pepton-glükóz) agar lemezekén (0,5 % (m/v) élesztőkivonat, 2 % (m/v) glükóz, 1 % (m/v) bakteriológiai pepton, 2 % (m/v) agar, kiegészítve 25 mg/l adeninnel; pH 5,6) lett kitenyésztve. Összességében, az EPK-k kétszeres sorozatos hígításai (6,25 - 400 g/ml) 1:1 arányban lettek összekeverve gomba-szuszpenziókkal 0,165 mol/l 3-(N-morfolin)-propánszulfonsav oldattal pufferezt RPMI-1640 közegben (pH 7,0). A keverékben lévő sejtszám $2,5 \times 10^3$ sejt/ml végső koncentrációra lett beállítva 96 lyukú sejtenyésztő lemezekén (REF3595; Costar®, Kennebunk, ME, USA), majd 35 °C-on 48 órán át voltak inkubálva. Az oldószer koncentrációja minden egyes lyukban állandó 1 %-on volt tartva. A szuszpenziók növekedéssel arányos abszorbanciája 595 nm-en lett megmérve egy Multiskan EX lemezolvasóval (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, Amerikai Egyesült Államok). Minden egyes kísérlet háromszor lett megismételve. A minimális gátló koncentráció (minimum inhibitory concentration, MIC) értékének az a legalacsonyabb koncentráció lett megadva, amelynél 80 %-os növekedésgátlás következett be (Boisard et al., 2015).

3.1.3. A propolisz-minták GC-MS analízise

Az etanolos propolisz-kivonatok trimetil-szilil-éter (trimethylsilyl-aether, TMS-aether) származékai GC-MS analízisnek lettek alávétve. Összefoglalva, nagyjából 2,2 mg fagyasztva szárított EPK lett összekeverve 50 µl száraz piridinnel (Merck, Budapest, Magyarország) és 75 µl N-metil-N-(trimetilszilil)-trifluoracetamid (N-methyl-N-(trimethylsilyl)-trifluoroacetamide, MSTFA) oldattal (Merck, Magyarország), majd a keverék 20 percen keresztül 80 °C-on volt melegítve. A minták GC-MS analízise egy 30 m hosszú, 0,25 mm belső átmérőjű, 1 µm filmvastagságú DB-5ms (Agilent, Santa Clara, CA, Amerikai Egyesült Államok) kapilláris oszloppal ellátott QP-2020 GC-MS rendszerrel (Shimadzu, Duisburg, Németország) valósult meg. A hőmérséklet 100 °C-tól 320 °C-ig volt programozva, 5 °C/perces emelkedési rátával. Vivőgázként hélium került alkalmazásra, 40 cm/s áramlási sebességgel. A split arány értéke 1:20, az injektor hőmérséklete 280 °C, az interfész hőmérséklete 320 °C volt. Az MS-re vonatkozóan, az elektronionizációs (EI, electron ionization) ionforrás hőmérséklete 230 °C, az ionizációs feszültség 70 eV, a késleltetési idő pedig 4,0 perc volt. Az adatok rögzítése pásztázó (scan) üzemmódban történt, 0,3 s-os eseményidővel, 4,5 és 60 perc között, 45-600 *m/z* tartományban. A retenciós index értékeinek számításához a fentebb ismertetett körülmények között C7-C33 n-alkánok (Restek, Bellefonte, PA, Amerikai Egyesült Államok) hexános oldatának szeparációja került elvégzésre. Az egyes vegyületek GC-MS-sel történő azonosításához a kapott tömegspektrumok külön-külön összevetésre kerültek az NIST 17 és a Smart Metabolites Database[®] adatbázisainak könyvtáraival, a Shimadzu GC-MS Solutions V.4.45 program (Shimadzu, Duisburg, Németország) belső könyvtárának keresőalgorithmusát alkalmazva.

3.1.4. A propolisz minták csoportosítása elektronikus orr segítségével

A propolisz-mintákat származási hely alapján elkülönítettük. Mindegyik propolisz-mintából törzsoldat készült: 15 µl EPK, 34 µl 96 %-os (v/v) etanol, és 4150 µl desztillált víz összekeverésével és homogenizálásával 800 µg/ml koncentrációjú törzsoldatok készültek. Mindegyik törzsoldatból 8 × 500 µl lett kimérve 20 ml-es üvegfiolákba. Kontroll gyanánt 83 µl 96 %-os (v/v) etanol és 7920 µl desztillált vízből készült kontroll-törzsoldatot alkalmaztunk. Ebből a kontroll-törzsoldatból 15 × 500 µl lett kimérve 20 ml-es üvegfiolákba, a HS mérésekhez.

A mérésekhez a NeOse Pro elektronikus orr rendszert (Aryballe Technologies, Grenoble, Franciaország) használtuk, amely egy aranyrétegre nyomtatott, 63 nem-specifikus fehérjéből álló szenzort alkalmazó opto-elektronikus szenzor-array rendszer (Brenet et al., 2018). Dinamikus mérést végeztünk, az alábbi paraméterekkel: a szivattyú áramlási rátája 40 ml/perc; a képkockák száma másodpercenként 20; a környezet hőmérséklete 29 °C; a maghőmérséklet 44 °C; a páratartalom 25 %. Először az etanolos kontroll minták mérését végeztük el, ezt követően pedig a propolisz minták mérése történt meg ugyanazon beállításokkal.

3.1.5. Statisztikai analízis

A propolisz-minták antifungális aktivitása esetén mindegyik kísérlet hármasával lett elvégezve, az adatokat átlag $\pm$ standard deviáció (standard deviation, SD) formában adtuk meg. Az adatok először varianciaanalízissel (ANOVA) kerültek elemzésre a csoportok közötti többszörös összehasonlítások céljából, majd Dunn-féle post hoc tesztnek lettek alávetve. Az elemzés eredményeinek prezentálása és a grafikonok elkészítése az OriginPro 2016 és a Past 3.1 szoftverekkel történt. A minták közötti különbségek $p < 0,05$ (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ és *** $p < 0,001$) esetén számítottak szignifikánsnak. A propolisz-minták antifungális aktivitásai közötti szignifikáns különbségek meghatározásához összehasonlításra kerültek a különböző túlélési százalékok a nem antifungális minta értékeivel (SO). Az SO mintával való összehasonlítás során a másik három minta (SZ, HE és CS) esetén a legalacsonyabb szignifikanciaszintet minden koncentrációnál megjelöltük.

A propolisz-minták GC-MS-sel történő összehasonlításához kiszámoltuk a nem antifungális mintában (SO) azonosított vegyületek eloszlási arányát, majd ezt összevetettük az összes antifungális mintában (SZ, HE és CS) talált, egyező vegyület átlagos eloszlási arányával.

A propolisz-minták opto-elektronikus orral végzett mérései során a műszer 63 egyedi szenzora által regisztrált jeleinek összességét LDA elemzésnek vetettük alá az IBM SPSS Statistics for Windows szoftver 26-os verziójával (IBM, Armonk, NY, Amerikai Egyesült Államok), ahol Fisher-féle együtthatót és Mahalanobis-távolságot használtunk stepwise analízishez.

3.2. Növényi alapú italok elkülönítése összetétel, típus és gyártó alapján

3.2.1. Növényi alapú italok mintáinak gyűjtése

Összesen 111 növényi alapú ital került megvásárlásra környékbeli bevásárlóközpontokból (ALDI, DM, EcoFamily, Penny Market, SPAR, TESCO; Pécs, Magyarország; Auchan; Szekszárd, Magyarország). A műszeres vizsgálatig a minták lefagyasztásra kerültek, és -80 °C-os hőmérsékleten kerültek tárolásra, kémiai jellegük megőrzésének céljából. A vizsgált minták 13 márka különböző termékei voltak, ezek név szerint: Adez, Alnatura, Alpro, DMbio, Happy, Isola, Joya, Koko, My Bio, Natur Aktiv, Plant Pro, Riso Scotti, és The Bridge. A mintákat növényi forrásuk alapján hét különböző csoportra osztottuk: kesu, kókusz, mandula, rizs, szója, tönkölybúza és zab.

A mintákat elkészítési módjuk alapján hagyományos és bio csoportokra osztottuk. A bio, vagy más néven organikus termékek biogazdálkodásnak megfelelő módszerek alapján készülnek, amelyek tiltják a mesterséges és szintetikus növényvédő szerek, a műtrágyák és a genetikailag módosított összetevők használatát (Giampieri et al., 2022). Amennyiben a gyártó a növényi alapú ital csomagolásán feltüntette a termék biogazdálkodásból származó eredetét, azt a bio csoportba soroltuk, egyéb esetben a termék a hagyományos kategóriába került. Létrehoztunk továbbá egy specifikus alcsoportot ('Barista') azon növényi alapú italok részére, melyeket barista célok felhasználására szántak, amely szintén jelölve volt a csomagoláson. Azokat a termékeket, melyeket speciális gyártási módszernek vetették alá (pörkölés), szintén külön csoportba helyeztük.

3.2.2. Növényi alapú italok GC-IMS analízise

Minden növényi minta -80 °C-os hőmérsékletű fagyasztoóban került tárolásra az analízis elvégzéséig. A vizsgálat előtt a minták szobahőmérsékleten kerültek felolvasztásra, majd a szilárd fázisok megszűnését követően gondosan össze lettek rázva. A mintatartó edények csak rövid időre lettek kinyitva, s bennük a légrés térfogata a lehető legalacsonyabb értéken volt tartva. Minden egyes mintatartó edényből 1-1 ml minta került bemérésre 20 ml-es, műanyag csavarral ellátott üvegfiolákba. Egy korábbi tanulmány (Manousi és Zachariadis, 2019) eredményei alapján 500 mg nátrium-klorid lett hozzáadva mindegyik mintához, ezzel elősegítve az analitok gőztérbe jutását.

A mérések során kapott eredmények alapján a további mérésekhez GC esetén 40 °C-os, az IMS esetén 70 °C-os, az inkubáció esetén 95 °C-os hőmérsékletet állítottunk

be. A minták inkubációja 20 percen keresztül történt, 95 °C-on. Az első 10 percben a fiolák kupakjai a robbanásveszély elkerülése végett enyhén meg lettek lazítva, a következő 10 percben pedig teljesen rá voltak szorítva a fiolákra. A GC-IMS mérések során nem alkalmaztunk kontroll mintákat.

A mérésekhez a BreathSpec GC-IMS készüléket (Gesellschaft für Analytische Sensorsysteme, G.A.S., GmbH, Dortmund, Németország) alkalmaztuk, melynek központi eleme (G.A.S, Dortmund, Németország) egy wide-bore GC kolonnával (MXT-WAX 30 m × 0.53 mm, RESTEK, Amerikai Egyesült Államok) van felszerelve.

Minden egyes minta gőzteréből egy 51 mm-es tűvel ellátott, hevített (95 °C), 5 ml-es műanyag fecskendővel 1 ml került kimérésre, melyből 200 µl került a fűtött (95 °C) splitless injektorba. Az injektálást követően az analitok első elválasztására a GC kolonnán került sor, majd onnan az eluátumot az IMS juttatta el a második elválasztásra, melyhez egy trícium ionizáló radioaktív forrással (5000 eV) és egy 9,8 cm hosszú drift csővel volt felszerelve. A drift gáz áramlási rátája 150 ml/perc, nyomása 0,712 kPa volt.

A mért illékony komponensek szoftveres analízise a VOCal program (Gesellschaft für Analytische Sensorsysteme GmbH, G.A.S.; Dortmund, Németország) segítségével valósult meg. A VOCal szoftverrel 58 különböző területet jelöltünk ki a kromatogramokon kapott jelek közül, melyek a vizsgált illékony komponenseket reprezentálták. A 66-os számú terület a GC-IMS által rögzített belső referenciajelként szolgált, melyet az 58 vizsgált terület jelerősségének normalizálásához használtunk fel. A további elemzésekhez a normalizálással kapott arányokat használtuk fel.

3.2.3. Növényi alapú italok analízise NeOse Pro elektronikus orral

Kontroll oldatnak minden elektronikus orral történő méréshez a „Happy” mandula alapú mintát használtuk, mely semleges ízzel és illattal rendelkezett, valamint mindössze 1 % mandulát tartalmazott. Mindegyik minta, beleértve a kontrollokat is, -80 °C-on volt tárolva a vizsgálatig. A vizsgálat előtt a minták kiolvasztásra kerültek 4 °C-on. A kiolvasztást követően mindegyik mintából 1 ml került kimérésre 7 db jelölt fiolába. A lezárt fiolák 40 perces inkubálásra kerültek 95 °C-on, majd 20 percen keresztül hagytuk őket visszahűlni szobahőmérsékletre (25 °C).

Mindegyik minta, a kontrollokat is beleértve, átfogó vizsgálaton ment keresztül, melyhez a NeOse Pro elektronikus orr készüléket (Aryballe Technologies, Grenoble, Franciaország) alkalmaztuk. A NeOse Pro, ahogy már korábban ismertetésre került, egy

aranyrétegre nyomtatott, 63 nem-specifikus fehérjéből álló szenzort alkalmazó opto-elektronikus szenzor-array rendszer (Brenet et al., 2018).

Dinamikus mérést végeztünk, az alábbi paraméterekkel: a szivattyú áramlási rátája 50 ml/perc; a képkockák száma másodpercenként 25; a környezet hőmérséklete 32 °C.

Egy minta vizsgálata nagyjából 2 percet vett igénybe, mely időtartammal biztosítható volt az analízis pontossága és magas minősége. Minden vizsgálandó anyagból 7 mintát mértünk. A kontroll minták mérése minden mérési munkafázis elején és végén, valamint két közbenső alkalommal történt. A kontroll minták mérési eredményei referenciapontként szolgáltak az eredmények kalibrálása során. Minden minta, beleértve a kontrollokat is, első két mérési eredményét nem vettük figyelembe az eredmények kiértékelésekor, mivel e mérések a poli-tetrafluor-etilén membrán (32 mm nagyságú átmérő, 0,45 µm RephiQuick Syringe Filter szűrő; RephiLe Bioscience Ltd., Zhejiang, Kína) telítéséhez voltak szükségesek.

3.2.4. Statisztikai analízis

A kontroll minták eredményeinek átlagolt értékeit kivontuk minden egyes vizsgált minta mérési eredményéből, ezzel korrigálva az elektronikus orr drift jelenségéből adódó eltolódást. A legalacsonyabb negatív érték abszolút értékét hozzáadtuk a korrigált eredmények mindegyik értékéhez, hogy kiküszöböljük a negatív értékeket az adathalmazban.

A GC-IMS-sel és elektronikus orral mért minták besorolása PCA és LDA eljárásokkal valósult meg. A PCA score plot-ok elkészítése a ClustVis segítségével történt, mely egy többváltozós adatok klaszterezéséhez használt webes eszköz. Az ellipsziseket a 95 %-os konfidencia-szint határozza meg (Metsalu és Vilo, 2015). Az LDA során Fisher-féle együtthatót és Mahalanobis-távolságot alkalmaztunk a stepwise analízis elvégzéséhez, IBM SPSS Statistics for Windows, Version 28 szoftverrel (IBM, Armon, NY, Amerikai Egyesült Államok).

A minták (n = 111) összevetése márka (Alpro: mandula, kesu, rizs, cukormentes szója; DMbio: mandula, kókusz, rizs, szója, tönkölybúza), típus (barista: mandula, kókusz, zab) és növényi forrás (mandula: pörkölt, barista, hagyományos, Bio; kókusz: Adez, Joya, Koko, Naturaktiv, Happy; hagyományos rizs: Alpro hagyományos, Alpro

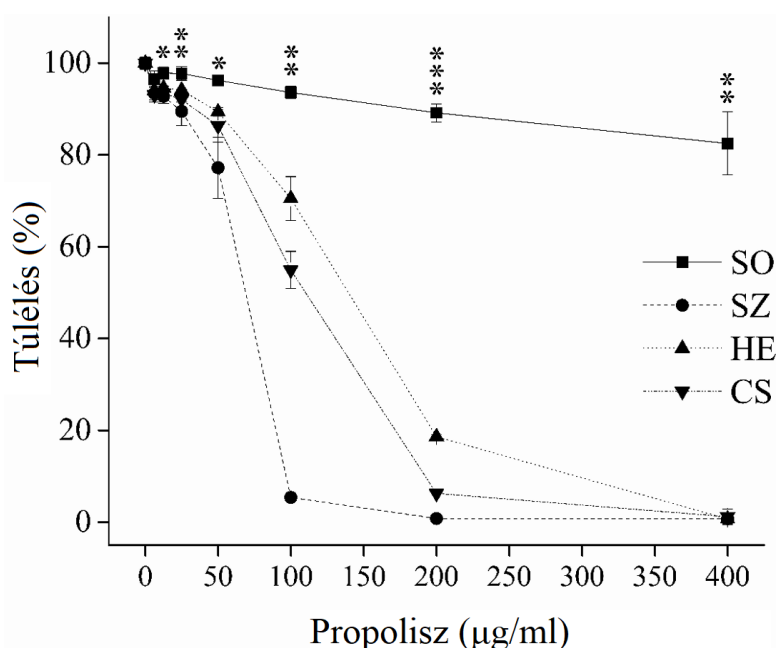
édesített, PlantPro, Happy; Bio rizs: Auchan, Isola, Riso Scotti, DMbio, TheBridge, MyBio) alapján történt.

A PCA és LDA elemzése során használt adatok és ábrák, beleértve a gallery plot paneleket, nem mentek keresztül mintákon belüli standardizáláson vagy normalizáláson.

4. Eredmények

4.1. Propolisz minták elkülönítése antifungális aktivitásuk alapján

Az EPK-k citotoxicitását a *C. albicans* antifungális szuszceptibilitásának meghatározásával jellemeztük, a mikrodilúciós módszer elvégzése után 48 órával. Mindegyik kivonat koncentráció-függő szuszceptibilitást mutatott (**1. ábra**).



1. ábra. Gátlási görbe. A *C. albicans* ATCC 44829 túlélése 48 óra 35 °C-os inkubáció után (y tengely), különböző etanolos propolisz-kivonatok (EPK-k) 0, 6,25, 12,5, 25, 50, 100, 200 és 400 400 µg/ml-es koncentrációjú oldatai esetén (x tengely).

A SZ, HE és CS minták erős antifungális aktivitással rendelkeztek, MIC₈₀ és IC₅₀ értékük 100–200 µg/ml, illetve and 72–134 µg/ml közötti skálán oszlott el (**I. táblázat**). A SO minta szignifikánsan gyengébb antifungális aktivitást mutatott a többi EPK-hoz képest, a sejtek növekedését gátló hatása nem haladta meg a 18 %-ot 400 µg/ml-es koncentráció esetén sem.

I. táblázat. Inhibíciós adatok. A minimum gátló koncentráció (MIC) értékeként azt a legalacsonyabb koncentrációt határoztuk meg, ami a növekedés 80 %-os gátlását eredményezte. Az 50 %-os gátló hatást okozó koncentráció (IC₅₀) értékeinek meghatározása szintén négy különböző etanolos propolisz-kivonat alkalmazásával történt, *C. albicans* törzsön. Az értékek g/ml mérőszámban vannak megadva.

EPK (µg/ml)	SO	SZ	HE	CS
IC ₅₀	Nincs	72	134	108
MIC ₈₀	Nincs	100	200	200

A GC-analízis során az EPK-kban összesen 148 komponens lett sikeresen beazonosítva, ezek közül 134 a HE mintában, 115 a CS mintában, 127 az SZ mintában, és 94 az SO mintában. Az azonosított vegyületek kémiai szerkezetük alapján alkoholok, alifás és aromás aldehidek, alkánok, aminosavak, alifás és aromás karbonsavak, illóolajok, észterek, zsírsavak, zsíralkoholok, flavonoidok, ketonok, polifenolok, cukrok (monoszacharidok, diszacharidok), cukorsavak, cukoralkoholok, fenolok, fenolsavak, terpének, terpénalkoholok, B₆ vitamin és egyéb szerkezetű vegyületek, mint a heptalén és a karbamid voltak.

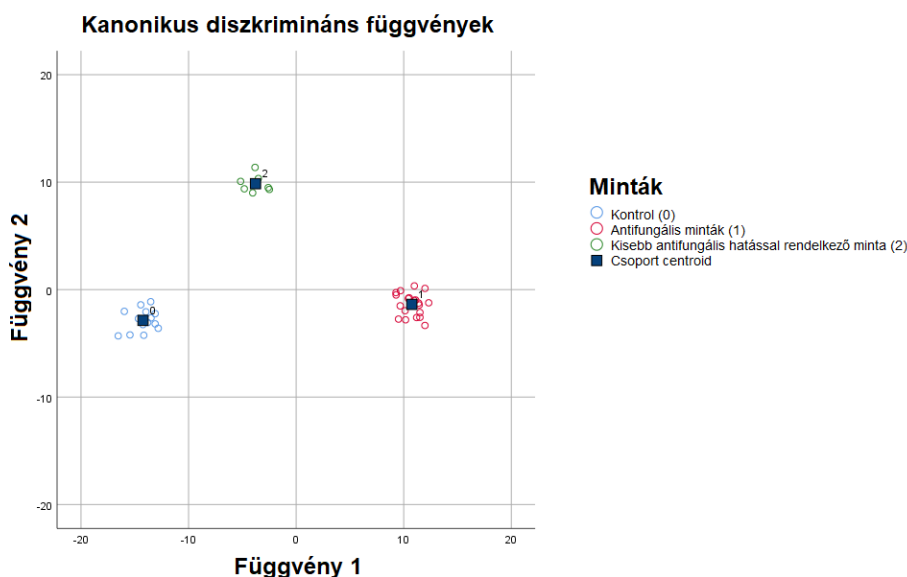
Az erősebb antifungális aktivitású mintákban az öt legnagyobb mennyiségben előforduló vegyület a krizin (25,65 %; polifenolos flavon/flavonoid), genisztein (21,69 %; izoflavon), etil-gallát (6,62 %; karbonsav), kávéssav (5,69 %; fahéjsav-származék), és kávéssav-etilészter (4,22 %; hidroxifahéjsav-származék/polifenol) voltak. A gyengébb antifungális aktivitású mintában az öt legnagyobb mennyiségben előforduló vegyület a krizin (19,01 %; polifenolos flavon/flavonoid); D-fruktofuranoz-pentakisz-(trimetilszilil)-éter (izomer, pszikóz) (16,46 %; monoszacharid), genisztein (13,83 %; izoflavon), szacharóz (10,54 %; diszacharid) és az α-D-glukopiranoz (6,44 %; monoszacharid) voltak.

Megállapításra került az erősebb és gyengébb antifungális aktivitású mintákban található vegyületek aránya is. A **II. táblázat** tartalmazza azon vegyületeket, melyeknek koncentrációja legalább ötször nagyobb az erősebb antifungális aktivitású mintákban (HE, CS, SZ) a gyengébb antifungális aktivitású mintához (SO) képest.

II. táblázat. A nagyobb antifungális aktivitású minták vegyületeinek relatív dominanciája. Ötszörösénél nagyobb koncentráció-arány (magas-antifungális-aktivitású/alacsony-antifungális-aktivitású minta) a magasabb antifungális aktivitású mintákban. Az eredeti adatok a GC-vel történő mérés eredményeiből származnak, és a területek értékeiből lettek kiszámítva.

Vegyület	Ötszörösénél nagyobb értékű koncentráció az antifungális mintákban [Szorzó]
11,14-eikozadiénsav	16,84
Ferulinsav	14,87
Fenil-propionsav	13,13
Farnezol	12,99
Fahéjsav	12,97
Karbamid	12,16
Benzoésav	11,66
17-oktadekénsav	10,96
α/β -eudezmol	10,90
Vanillin	9,97
Ricinolénsav	8,88
4-metoxi-fahéjsav	8,64
Cisz/transz-p-kumarinsav	8,60
Benzil-alkohol	8,21
Cisz/transz-p-kumarinsav	8,10
Hexadecil-p-kumarát	7,30
1,3,5-trihidroxi-benzol	7,03
Koniferil-aldehid	7,02
Izoferulinsav	6,89
Piridoxin	6,79
Metil-ferulát	6,55
Propionsav	6,19
α/β -eudezmol	5,67
Metil 2-amino-3-hidroxibenzoát	5,46
Kávésav	5,07
Kávésav-etilészter	5,06

Az elektronikus orr mérési eredményeit az IBM SPSS Statistics szoftverrel elemeztük. Három különböző csoportot hoztunk létre, egyet az etanolos kontrolloknak, egyet a magasabb, és egyet az alacsonyabb antifungális aktivitású mintáknak. A csoportok egymástól való elkülönülésének vizsgálatára diszkrimináns analízist alkalmaztunk. A **2. ábra** a különböző minták markáns elkülönülését szemlélteti: a kontroll minták, a magasabb antifungális aktivitású minták és az alacsonyabb antifungális aktivitású minták jól láthatóan elkülönülnek egymástól, és szeparált csoport centroidokat alkotnak. A stepwise módszer eredménye alapján a csoportosított esetek 98,4 %-a lett helyesen besorolva, azonban keresztvalidációt alkalmazva a csoportosított esetek 95,2 %-a kapott helyes besorolást (**III. táblázat**).



2. ábra. Lineáris diszkriminanciaanalízis (LDA). EPK minták elkülönítése egymást alacsony vagy magas antifungális aktivitásuk alapján, valamint a kontroll etanol oldószertől, LDA segítségével. Az eredeti adatok a 63 különböző peptid-szekvenciát tartalmazó NeOse Pro optoelektronikus orr szenzor-array mérési eredményeiből származnak.

III. táblázat. Besorolási eredmények. A táblázat az alacsony antifungális aktivitású („Nem antifungális”) és magas antifungális aktivitású („Antifungális”) propolisz minták, valamint az oldószer kontroll („Kontroll”) eredeti és keresztvalidált értékeit jeleníti meg. A minták besorolása lineáris diszkriminanciaanalízissel (LDA) történt.

Besorolási eredmények ^{a,c}					
Várható csoportbesorolás					
	Forrás	Kontroll	Nem-antifungális	Antifungális	Összesen
Eredeti	Kontroll	13	1	0	14
	Szám Nem antifungális	0	7	0	7
	Antifungális	0	0	42	42
	Kontroll	92,9	7,1	0,0	100,0
	% Nem antifungális	0	100,0	0,0	100,0
	Antifungális	0	0,0	100,0	100,0
Keresztvalidált ^b	Kontroll	12	2	0	14
	Szám Nem antifungális	0	7	0	7
	Antifungális	0	1	41	42
	Kontroll	85,7	14,3	0	100,0
	% Nem-antifungális	0	100,0	0	100,0
	Antifungális	0	2,4	97,6	100,0

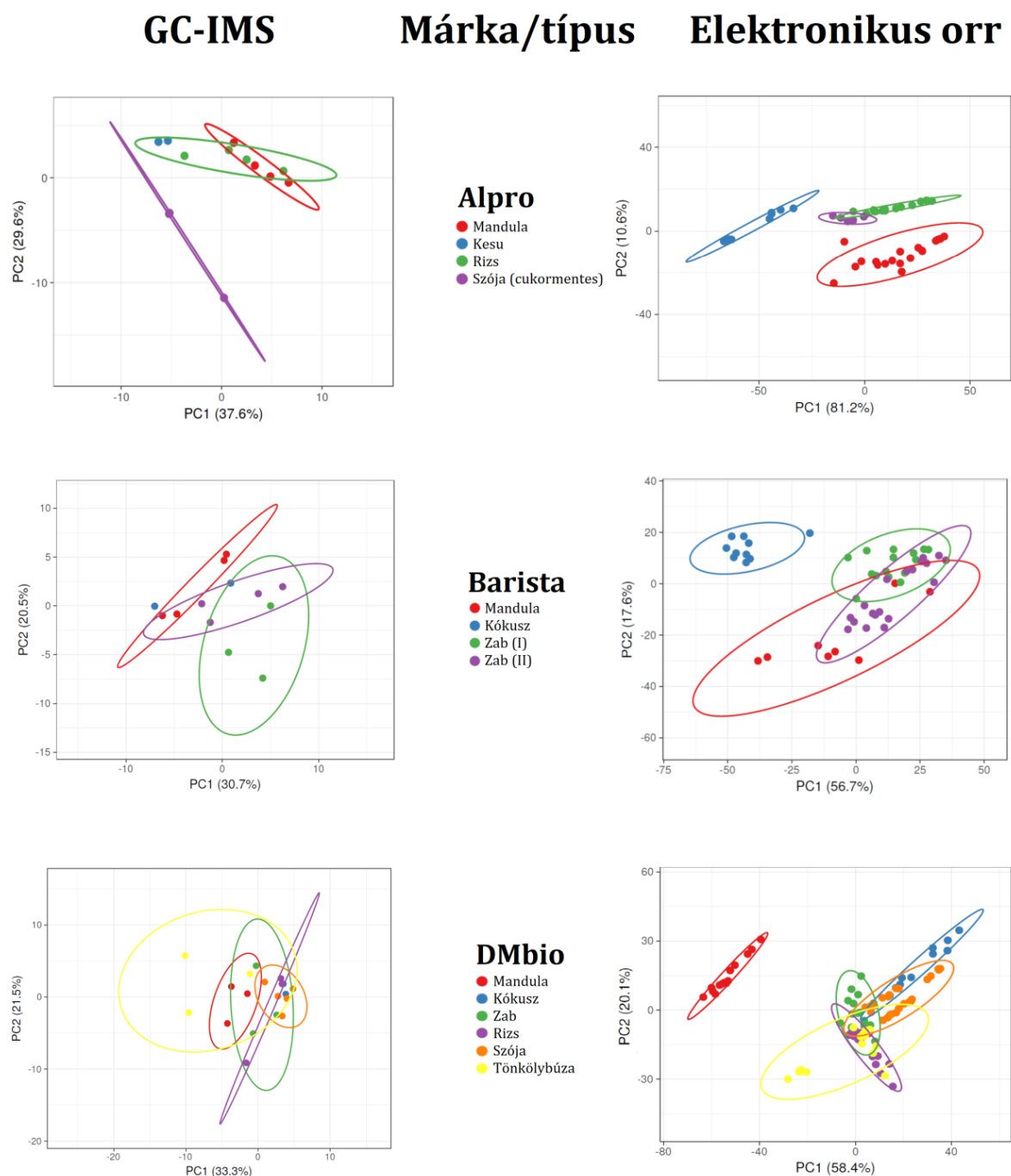
a. Az eredeti csoportosított esetek 98,4 %-a kapott helyes besorolást.

b. A keresztvalidáció csak ezekben az esetekben történt meg az analízis során. Keresztvalidáció során minden esetet az adottól eltérő esetekből származó függvények szerint osztályoznak.

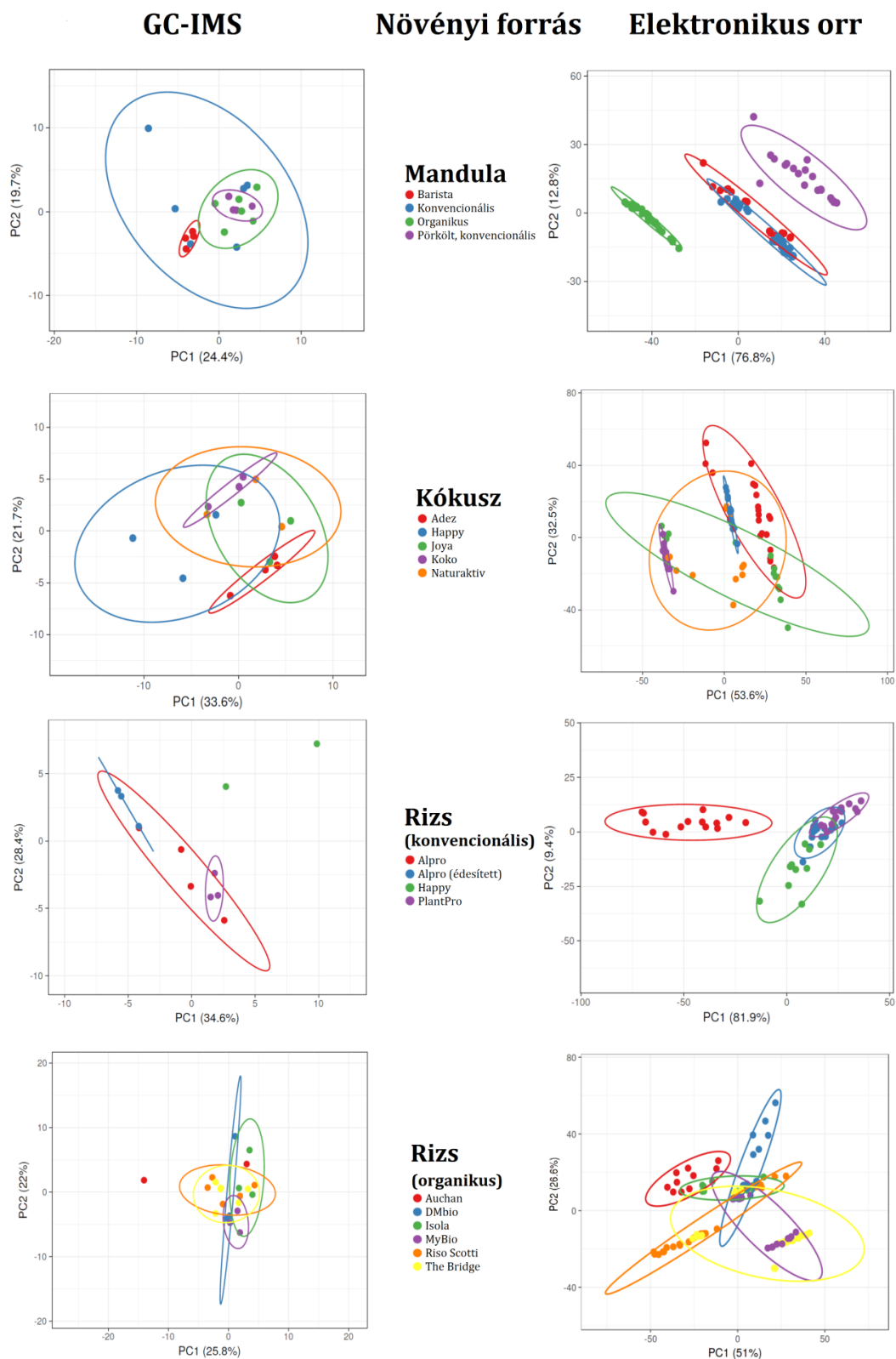
c. A keresztvalidált csoportosított esetek 95,2 %-a kapott helyes besorolást.

4.2. Növényi alapú italok elkülönítése összetétel, típus és gyártó alapján

A 3-4. ábrák a GC-IMS-sel és elektronikus orral végzett mérések PCA eredményeit mutatják be. A PCA eredményei a GC-IMS adatai esetében több átfedést és kisebb mértékű elkülönülést mutatnak, mint az elektronikus orr adatai esetében.



3. ábra. Főkomponens-analízis eredményei gázkromatográfiával kapcsolt ionmobilitás spektroszkópia (GC-IMS) és elektronikus orr méréseiből növényi alapú italok esetén márka és típus alapján.



4. ábra. Főkomponens-analízis eredményei gázkromatográfiával kapcsolt ionmobilitás spektroszkópia (GC-IMS) és elektronikus orr méréseiből növényi alapú italok esetén növényi forrás alapján.

Az Alpro minták esetében, a GC-IMS alkalmazása a cukormentes szója-alapú minták teljes elkülönülését tette lehetővé a többi Alpro mintától, továbbá ezzel a módszerrel szintén elkülönültek egymástól a kesudió-alapú minták és a mandula-alapú minták. Azonban átfedések jöttek létre a mandula-alapú és rizs-alapú minták között, valamint a kesudió-alapú és rizs-alapú minták között. Az elektronikus orral történő vizsgálat a mandula-alapú és kesudió-alapú minták teljes szeparációját tette lehetővé, azonban a rizs-alapú és cukormentes szója-alapú minták között átfedések jöttek létre.

A barista minták vizsgálata során, a GC-IMS alkalmazása lehetővé tette a mandula alapú minták elkülönítését a zab-alapú minták egyik csoportjától a kettő közül, de e módszerrel egyik mintacsoport sem különült el teljesen az összes többitől. Ezzel ellentétben, az elektronikus orr alkalmazásával a kókusz-alapú minták teljesen elkülönültek a többi barista mintától, azonban átfedések láthatóak a mandula-alapú minták és mindkét különböző csoportba tartozó zab-alapú minták esetében.

A DMbio minták GC-IMS-sel történő vizsgálata során egyik csoport sem különült el teljesen az összes többi mintától, azonban a mandula-alapú és rizs-alapú minták szeparációja megfigyelhető volt. Azonban mindegyik minta között átfedések voltak megfigyelhetőek a GC-IMS alkalmazása esetén. Az elektronikus orral történő vizsgálat a mandula-alapú mintákat teljesen el tudta különíteni a többi DMbio mintától, valamint a rizs-alapú és a kókusz-alapú minták egymástól való elkülönülését is meg tudta valósítani. Azonban a mandula-alapú minták kivételével az összes minta esetében tapasztalhatóak voltak átfedések.

A mandula alapú-minták vizsgálata esetén a GC-IMS módszerével a barista és pörkölt (hagyományos) minták elkülönültek egymástól, de az összes mintát együtt vizsgálva egyikük teljes szeparációja sem volt megfigyelhető. Az elektronikus orr módszerével a bio és a pörkölt (hagyományos) minták teljes elkülönülése volt tapasztalható, azonban a barista és hagyományos minták átfedésben voltak egymással.

A kókusz-alapú minták egyikét sem sikerült a GC-IMS analízissel teljesen elkülöníteni, azonban az Adez és Koko minták szeparálódtak egymástól. Az elektronikus orral szintén nem sikerült teljes szeparációt elérni egyik minta esetében sem, azonban a Koko és Happy minták, valamint a Koko és Adez minták egymástól elkülönültek.

A hagyományos, rizs-alapú minták GC-IMS vizsgálata során a Happy minták teljes szeparációját tapasztaltuk, továbbá az édesített Alpro és PlantPro minták

elkülönültek egymástól. Az elektronikus orr módszerével az Alpro minták teljes szeparációja valósult meg, azonban az Alpro, Happy és PlantPro minták átfedésbe kerültek egymással.

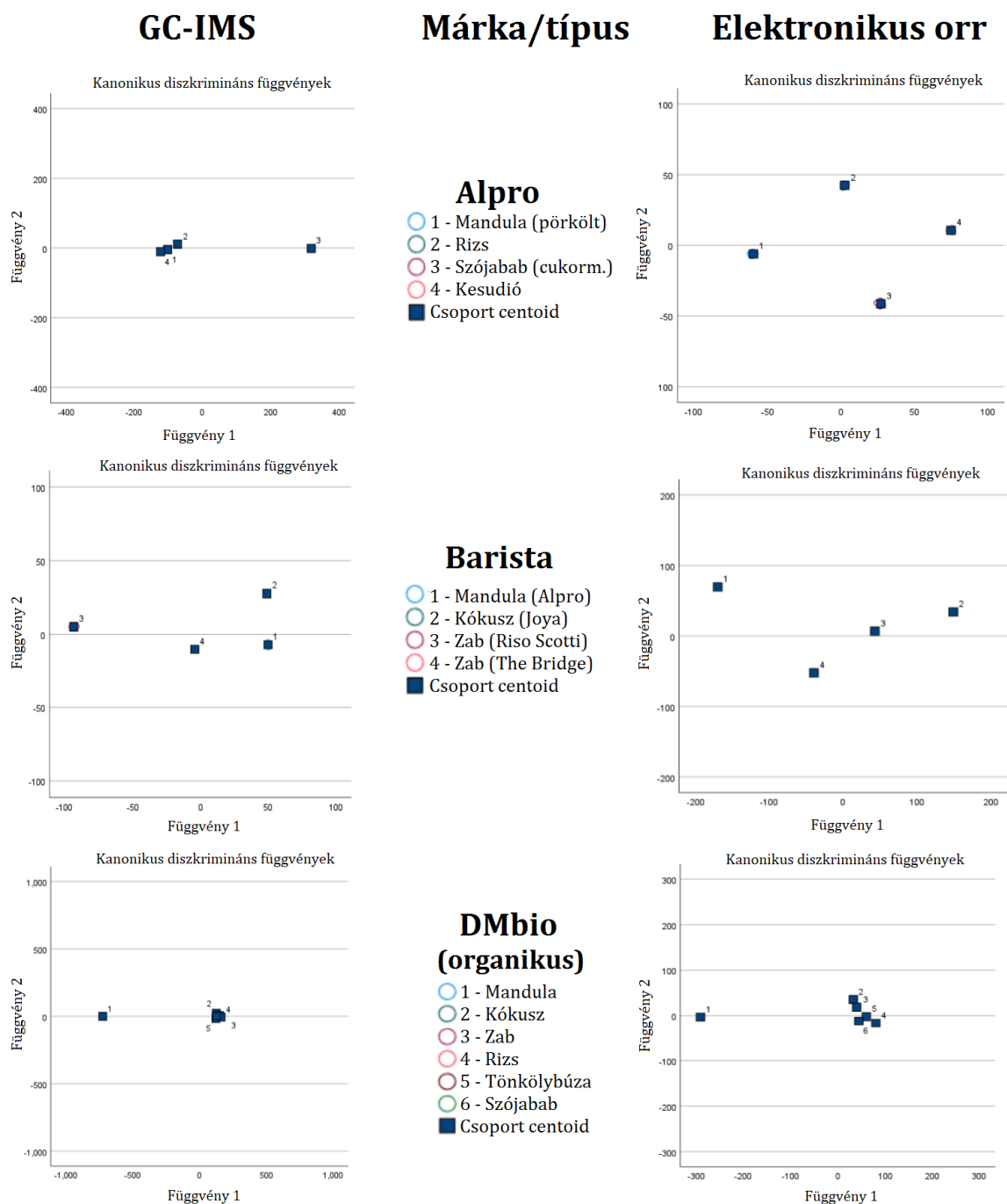
A bio, rizs-alapú minták esetében a GC-IMS módszerével az Auchan minták és a MyBio minták egymástól való elkülönülése volt megfigyelhető, azonban az összes mintát együtt elemezve teljes szeparáció nem valósult meg egyik csoport esetében sem. Az elektronikus orr képes volt az Auchan mintákat elkülöníteni a Riso Scotti és DMbio mintáktól, azonban az összes mintát együtt vizsgálva egyik csoport sem különült el teljesen a többitől.

Az összesített LDA eredményeket a **IV. táblázat** tartalmazza, mely összeveti a GC-IMS és az elektronikus orr által vizsgált csoportok eredeti és keresztvalidált besorolási eredményeit. A keresztvalidálást követően a GC-IMS által kapott LDA besorolási eredményei kevésbé bizonyultak pontosabbnak az elektronikus orr eredményeihez képest. Bár a legalacsonyabb besorolási pontosság az Alpro minták esetében kapott 15,4 % lett, a többi pontossági érték 89,5 % vagy annál nagyobb lett. Viszont az elektronikus orr esetében minden szempontból magasabb pontossági értékek tapasztalhatóak, melyek közül a legalacsonyabb 96,2 %.

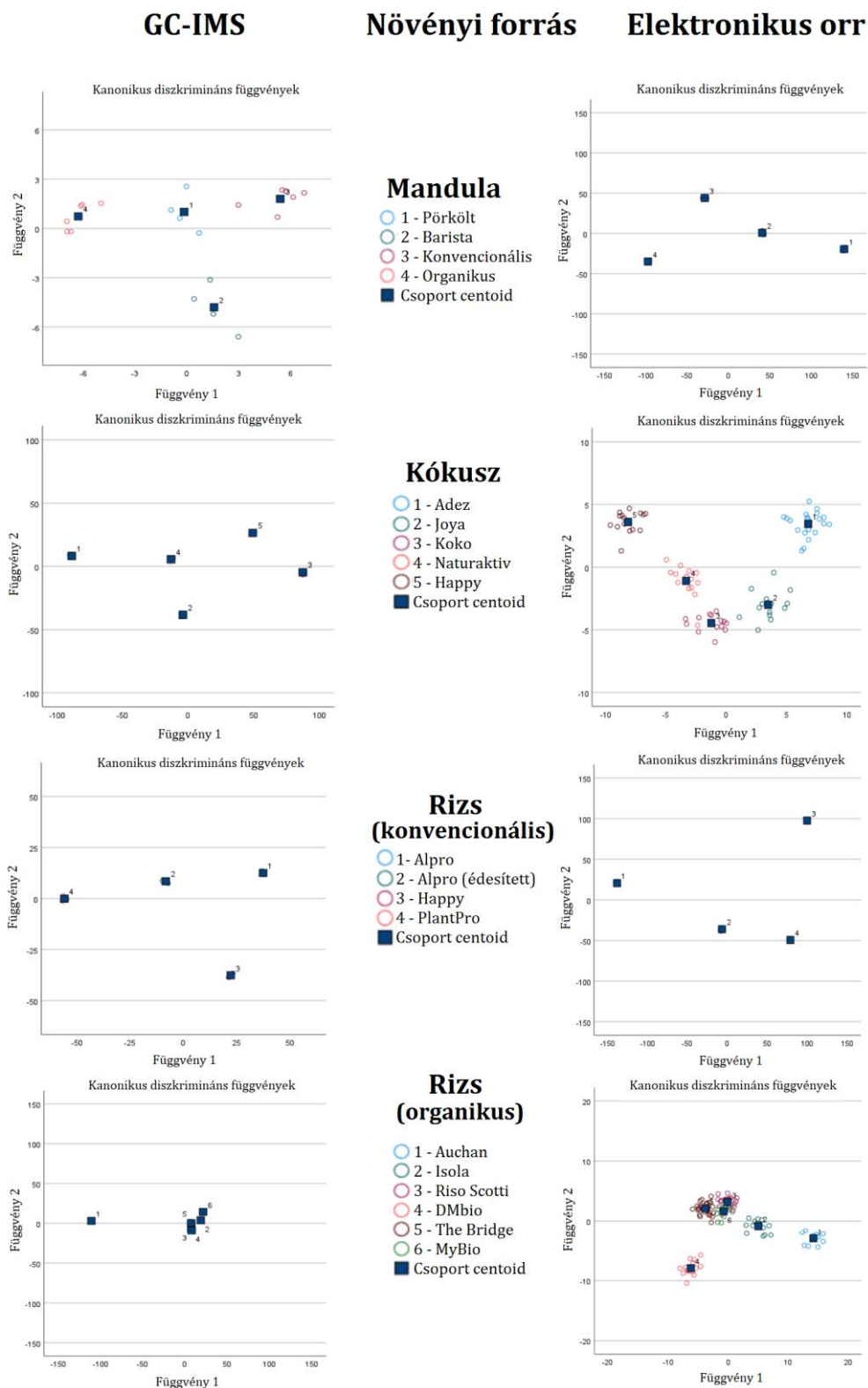
IV. táblázat. Az LDA általi helyes besorolások százalékos értékei keresztvalidáció előtt és után. LDA: lineáris diszkriminanciaanalízis; GC-IMS: gázkromatográfiával kapcsolt ionmobilizációs spektrometria; hagy.: hagyományos

Vizsgált csoport	GC-IMS		Elektronikus orr	
	<i>Eredeti</i>	<i>Keresztvalidált</i>	<i>Eredeti</i>	<i>Keresztvalidált</i>
	<i>csoportosított</i>	<i>csoportosított</i>	<i>csoportosított</i>	<i>csoportosított</i>
	<i>esetek helyesen</i>	<i>esetek helyesen</i>	<i>esetek helyesen</i>	<i>esetek helyesen</i>
	<i>besorolva</i>	<i>besorolva</i>	<i>besorolva</i>	<i>besorolva</i>
Alpro	100,0 %	15,4 %	100,0 %	100,0 %
Barista	100,0 %	92,3 %	100,0 %	100,0 %
DMbio	100,0 %	89,5 %	100,0 %	100,0 %
Mandula	100,0 %	95,0 %	100,0 %	100,0 %
Kókusz	100,0 %	100,0 %	100,0 %	96,2 %
Rizs (hagy.)	100,0 %	91,7 %	100,0 %	100,0 %
Rizs (bio)	100,0 %	90,9 %	100,0 %	100,0 %

Az **5-6. ábrák** az LDA eredmények vizuális összehasonlítását szemléltetik a GC-IMS és elektronikus orr mérései alapján.



5. ábra. Lineáris diszkriminanciaanalízis besorolási eredményei gázkromatográfiás ionmobilitás-spektroszkópia (GC-IMS) és elektronikus orr méréseiből növényi alapú italok esetén márka és típus alapján.



6. ábra. Lineáris diszkriminanciaanalízis besorolási eredményei gázkromatográfiás ionmobilitás-spektroszkópia (GC-IMS) és elektronikus orr méréseiből növényi alapú italok esetén növényi forrás alapján.

5. Megbeszélés

Első vizsgálatunk célja négy különböző, méhészeti szempontból egymással át nem fedő magyarországi régióból származó nyárfa-propolisz etanolos oldatának jellemzése és összehasonlítása volt. Vizsgálatunk során az egyik minta szignifikánsan alacsonyabb antifungális aktivitást mutatott *C. albicans* esetén a többi mintához képest.

A GC-MS analízis során az antifungális és kevésbé antifungális minták között jelentős összetételbeli eltéréseket találtunk. Az összes minta egyik legfőbb alkotóelemének, a krizinnek, aktív növekedésgátló hatását már dokumentálták *Candida* fajok esetében (Agüero et al., 2014). A fahéjsav-származékok, melyek fungális növekedést gátló hatását leírták (Sova, 2012), sokkal nagyobb mennyiségben voltak fellelhetőek a magasabb antifungális aktivitású mintákban. Az etil-gallát esetében flukonazzal összevethető IC₅₀ értéket mértek *Candida* fajok esetében, továbbá 3-β-D-glukopiranozil-oxi-szitoszterol-galláttal szinergizáló hatást írtak le (Dias Silva et al., 2019).

A magas antifungális aktivitású mintákkal összevetve, az alacsony antifungális aktivitású mintában a krizin volt az antifungális hatással rendelkező komponens, viszont alacsonyabb koncentrációban. Az alacsony antifungális aktivitású minta genisztein-tartalma is alacsonyabb volt, melynek hatása az antifungális hatás szempontjából kérdéses. Az alacsony antifungális aktivitású minta továbbá lényegesen kevesebb fahéjsav-származékot és etil-gallátot tartalmazott, viszont nagyobb mennyiségben tartalmazott szacharidokat, melyek antifungális hatására nem található utalás a szakirodalomban.

A másik megközelítésünk során az antifungális és kevésbé antifungális minták összetevőinek arányát vetettük össze. E módszerrel 26 vegyületet azonosítottunk, azonban ezek jelentős része a szakirodalom alapján nem rendelkezik antifungális hatással, azonban a farnezol (Ramage et al., 2002), vanillin (Boonchird és Flegel, 1982), p-kumarinsav (Shreaz et al., 2013), és a metil-ferulát (Perez-Castillo et al., 2020) esetében beszámoltak a mikroorganizmusok, köztük a *C. albicans*, biofilm-képzésének hatásos gátlásáról.

Az antifungális hatással kapcsolatos kutatások új lehetséges célmolekuláinak felvetése mellett fő célunk magas antifungális aktivitással rendelkező propolisz-minták azonosítása volt. A minták osztályozása a NeOse Pro opto-elektronikus orral történt, az LDA gépi tanulás algoritmusával. Az általunk tesztelt opto-elektronikus orr egy fehérje

szenzor-array és a kiválasztott adatfeldolgozó algoritmus segítségével képes volt a propolisz-mintákat 95 %-os pontossággal osztályozni antifungális aktivitásuk alapján.

Második vizsgálatunk során 111 növényi alapú ital mintájának GC-IMS-sel és elektronikus orral történő analízisét valósítottuk meg, célunk a két műszer pontosságának összevetése volt. A dimenziók számának csökkentése végett kontrollt alkalmazó és kontrollt nem alkalmazó módszereket vetettünk össze. A statisztikai elemzésekhez a két leggyakrabban alkalmazott módszert választottuk, a PCA-t és az LDA-t (Jena et al., 2023). Tanulmányunk a GC-IMS-t és az elektronikus orrot ígéretes, gyors, hatékony és olcsó módszerként értékelte, és összehasonlította a különböző gyártók által előállított, eltérő alapanyagokat tartalmazó növényi alapú italok megkülönböztetésének és osztályozásának képességét.

Tanulmányunk az elsők között hasonlította össze GC-IMS-t és elektronikus orrot különböző növényi alapú italok mintáinak elkülönítése során. Eredményeink alapján a legtöbb mandula minta helyesen lett osztályozva, 95-100 %-os pontossággal. A helytelen osztályozás hátterében a minták alacsony mandula-tartalma állhat, melynek skálája 1 % és 7 % közé esett. A helytelen osztályozás eredhet továbbá a termékek összetevőinek keveredéséből, például kókusz és rizs, illetve kókusz és szójabab együttes alkalmazása esetén. Bár a gyártók alkalmazhatnak eltérő alapanyagokat és protokollokat a gyártás során, a különböző termékek tartalmazhatnak azonos adalékanyagokat, például napraforgóolajat, gellángumit és B₂ vitamint.

Eredményeink azt mutatják, hogy GC-IMS-hez való ujjlenyomat-referenciák nélkül a GC-IMS-sel nem voltak egyértelműen elkülöníthetőek a különböző növényi alapú italok mintái. Ezzel ellentétben az elektronikus orr módszerével a minták differenciálása sokkal hatékonyabban valósult meg. Eredményeink alapján az elektronikus orr módszere pontosabb és gyorsabb eljárásnak bizonyult a GC-IMS-nél, lehetővé téve egy minta 2 percen belüli analízisét szemben a GC-IMS 25 perces időtartamával.

A növényi alapú italok csoportosításának egyik limitációja, hogy nem azonos mintaszámmal történtek a GC-IMS és elektronikus orr mérései. A csoportonkénti mintaszámok eltérése torzíthatja az eredményeket. Azonban megjegyzendő, hogy GC-IMS esetén egyetlen minta mérése 25 percet vesz igénybe, míg ez az elektronikus orr esetén mindössze 2 perc. A vizsgálat megvalósításakor azt is figyelembe kellett vennünk, hogy mennyi időt vesz igénybe az analízis végrehajtása, aminek a

következményeként GC-IMS-sel egy mintát kevesebbszer tudtunk megmérni adott idő alatt, mint az elektronikus orral. A másik limitáló tényező, hogy a GC-IMS eredményeinek kiértékelésekor bizonyos esetekben 3-nál kevesebb mintaszámmal dolgoztunk, amely nem teszi lehetővé a 95 %-os konfidencia intervallum meghatározását.

6. Új eredmények

Kutatásaink során propoliszok és növényi alapú italok mintáinak felhasználásával teszteltük az elektronikus orr és a GC-IMS alkalmazhatóságát a minőségellenőrzésben.

Első kutatásunk során négy különböző magyarországi régió propolisz-mintáinak műszeres (GC-IMS, opto-elektronikus orr) vizsgálatát végeztük el. A propolisz-minták esetében az elektronikus orr és a GC-MS módszere alapján kapott eredmények jól korreláltak a különböző propolisz-minták korábban meghatározott antifungális aktivitásával. GC-MS-sel 26 olyan vegyületet azonosítottunk, amely összefüggésben állhat a kiemelt antifungális aktivitással. Az eredmények alapján lehetséges összefüggéseket vázoltunk fel az antifungális aktivitás, a kémiai összetétel, és a volatilis profilok között. Tanulmányunk felvetette az opto-elektronikus orrok orvosi területen történő alkalmazásának lehetőségét, kibővítve a már rendelkezésre álló eszköztárat.

Második kutatásunk során 111 növényi alapú ital mintájának vizsgálatát végeztük el GC-IMS és elektronikus orr segítségével. A különböző növényi alapú italok egymástól való elkülönülését vizsgáltuk növényi forrásuk, márkájuk illetve típusuk függvényében. Eredményeink alapján a különböző növényi alapú italok teljes elkülönülése ritkán valósult meg, azonban egyes csoportok egymástól szeparálódtak. Az elektronikus orr mérései a GC-IMS-hez képest pontosabbnak bizonyultak, ez azonban adódhat a két módszer eltérő affinitásától a poláris molekulák iránt, melyeket a növényi alapú italok nagyobb számban tartalmaznak az apoláris molekulákhoz képest. Eredményeink alapján mindkét módszer további finomításra szorul, azonban kiemelendő az elektronikus orr gyorsasága és pontossága. Jelenlegi formájában egyik általunk vizsgált eszköz sem fogja leváltani a GC-MS-t vagy a HPLC-MS-t, azonban azok hasznos kiegészítőjévé válhatnak.

7. Irodalomjegyzék

Agüero, M. B., Svetaz, L., Baroni, V., Lima, B., Luna, L., Zacchino, S., Saavedra, P., Wunderlin, D., Feresin, G. E., & Tapia, A. (2014). Urban propolis from San Juan province (Argentina): Ethnopharmacological uses and antifungal activity against *Candida* and dermatophytes. *Industrial Crops and Products*, 57, 166-173.

Angelino, D., Rosi, A., Vici, G., Dello Russo, M., Pellegrini, N., Martini, D., & SINU Young Working Group. (2020). Nutritional quality of plant-based drinks sold in Italy: the Food Labelling of Italian Products (FLIP) study. *Foods*, 9(5), 682.

Anjum, S. I., Ullah, A., Khan, K. A., Attaullah, M., Khan, H., Ali, H., Bashir, M. A., Tahir, M., Ansari, M. J., Ghramh H. A., Adgaba, N., & Dash C. K. (2019). Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(7), 1695-1703.

Basile, T., Mallardi, D., & Cardone, M. F. (2023). Spectroscopy, a tool for the non-destructive sensory analysis of plant-based foods and beverages: A comprehensive review. *Chemosensors*, 11(12), 579.

Boisard, S., Le Ray, A. M., Landreau, A., Kempf, M., Cassisa, V., Flurin, C., & Richomme, P. (2015). Antifungal and antibacterial metabolites from a French poplar type propolis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015(1), 319240.

Boonchird, C., & Flegel, T. W. (1982). In vitro antifungal activity of eugenol and vanillin against *Candida albicans* and *Cryptococcus neoformans*. *Canadian Journal of Microbiology*, 28(11), 1235-1241.

Brenet, S., John-Herpin, A., Gallat, F. X., Musnier, B., Buhot, A., Herrier, C., Rousselle, T., Livache, T., & Hou, Y. (2018). Highly-selective optoelectronic nose based on surface plasmon resonance imaging for sensing volatile organic compounds. *Analytical Chemistry*, 90(16), 9879-9887.

Corrêa, J. L., Veiga, F. F., Jarros, I. C., Costa, M. I., Castilho, P. F., de Oliveira, K. M. P., Rosseto, H. C., Bruschi, M. L., Svidzinski, T. I. E., & Negri, M. (2020). Propolis extract has bioactivity on the wall and cell membrane of *Candida albicans*. *Journal of Ethnopharmacology*, 256, 112791.

Dias Silva, M. J., Simonet, A. M., Silva, N. C., Dias, A. L. T., Vilegas, W., & Macías, F. A. (2019). Bioassay-guided isolation of fungistatic compounds from *Mimosa caesalpiniiifolia* leaves. *Journal of Natural Products*, 82(6), 1496-1502.

Giampieri, F., Luca Mazzoni, L., Danila Cinciosi, D., Alvarez-Suarez, J. M., Regolo, L., Sánchez-González, C., Capocasa, F., Xiao, J., Mezzetti, B., & Battino, M. (2022). Organic vs conventional plant-based foods: A review. *Food Chemistry*, 383, 132352.

Jena, S. P., Paikaray, B. K., Pramanik, J., Thapa, R., & Samal, A. K. (2023). Classifications on wine informatics using PCA, LDA, and supervised machine learning techniques. *International Journal of Work Innovation*, 4(1), 58-73.

- Kaldeli, A., Zakidou, P., & Paraskevopoulou, A. (2024). Volatilomics as a tool to ascertain food adulteration, authenticity, and origin. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 23(4), e13387.
- Kasote, D., Bankova, V., & Viljoen, A. M. (2022). Propolis: chemical diversity and challenges in quality control. *Phytochemistry Reviews*, 21(6), 1887-1911.
- Lytou, A. E., Panagou, E. Z., & Nychas, G. E. (2019). Volatilomics for food quality and authentication. *Current Opinion in Food Science*, 28, 88–95.
- Manousi, N., & Zachariadis, A.G. (2019). Determination of volatile compounds in nut-based milk alternative beverages by HS-SPME prior to GC-MS analysis. *Molecules*, 24(17), 3091.
- McClements, D. J., Newman, E., & McClements, I. F. (2019). Plant-based milks: A review of the science underpinning their design, fabrication, and performance. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(6), 2047-2067.
- Metsalu, T., & Vilo, J. (2015). ClustVis: a web tool for visualizing the clustering of multivariate data using Principal Component Analysis and heatmap. *Nucleic Acids Research*, 43(W1), W566-W570.
- Ning, Y., Liu, Z., Yang, Z., Ma, J., Zhang, Y., & Li, Q. (2024). Adulteration detection of plant protein beverages by UPLC-MS/MS based on signature peptide of allergen. *Food Science and Human Wellness*, 13(6), 3371-3380.
- Peixoto, M., Freitas, A. S., Cunha, A., Oliveira, R., & Almeida-Aguiar, C. (2022). Mixing propolis from different apiaries and harvesting years: towards propolis standardization? *Antibiotics*, 11(9), 1181.
- Perez-Castillo, Y., Lima, T. C., Ferreira, A. R., Silva, C. R., Campos, R. S., Neto, J. B. A., Magalhães, H. I. F., Cavalcanti, B. C., Júnior, H. V. N., & de Sousa, D. P. (2020). Bioactivity and molecular docking studies of derivatives from cinnamic and benzoic acids. *BioMed Research International*, 2020(1), 6345429.
- Pérez-Rodríguez, M. L., Serrano-Carretero, A., García-Herrera, P., Cámara-Hurtado, M., Sánchez-Mata, M.C. (2023). Plant-based beverages as milk alternatives? Nutritional and functional approach through food labelling. *Food Research International*, 173(1), 113244.
- Przybyłek, I., & Karpiński, T. M. (2019). Antibacterial properties of propolis. *Molecules*, 24(11), 2047.
- Ramage, G., Saville, S. P., Wickes, B. L., & López-Ribot, J. L. (2002). Inhibition of *Candida albicans* biofilm formation by farnesol, a quorum-sensing molecule. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(11), 5459-5463.
- Rowan, D. D. (2011). Volatile metabolites. *Metabolites*, 1(1), 41-63.

Sforcin, J. M. (2016). Biological properties and therapeutic applications of propolis. *Phytotherapy Research*, 30(6), 894-905.

Shreaz, S., Bhatia, R., Khan, N., Muralidhar, S., Manzoor, N., & Khan, L. A. (2013). Influences of cinnamic aldehydes on H⁺ extrusion activity and ultrastructure of *Candida*. *Journal of Medical Microbiology*, 62(2), 232-240.

Sova, M. (2012). Antioxidant and antimicrobial activities of cinnamic acid derivatives. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 12(8), 749-767.

Torres-Rodríguez, J. M., & Alvarado-Ramírez, E. (2007). In vitro susceptibilities to yeasts using the ATB[®] FUNGUS 2 method, compared with Sensititre Yeast One[®] and standard CLSI (NCCLS) M27-A2 methods. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 60(3), 658–661.

Walther, B., Guggisberg, D., Badertscher, R., Egger, L., Portmann, R., Dubois, S., Haldimann, M., Kopf-Bolan, K., Rhyn, P., Zoller, O., Veraguth, R., & Rezzi, S. (2022). Comparison of nutritional composition between plant-based drinks and cow's milk. *Frontiers in Nutrition*, 9, 988707.

Wang, S., Chen, H., & Sun, B. (2020). Recent progress in food flavor analysis using gas chromatography-ion mobility spectrometry (GC-IMS). *Food Chemistry*, 315, 126158.

Xie, A., Dong, Y., Liu, Z., Li, Z., Shao, J., Li, M., & Yue, X. (2023). A review of plant-based drinks addressing nutrients, flavor, and processing technologies. *Foods*, 12(21), 3952.

8. Publikációs jegyzék

Az értekezés alapjául szolgáló publikációk:

Papp, Z., Bouchelaghem, S., Szekeres, A., Meszéna, R., Gyöngyi, Z., & Papp, G. (2021). The scent of antifungal propolis. *Sensors*, 21(7), 2334. DOI: 10.3390/s21072334.

Besorolás: Q1
IF: 3,847

Papp, Z., Nemeth L. G., Nzetchouang Siyapndjeu, S., Bufa, A., Marosvölgyi, T., & Gyöngyi Z. (2024). Classification of plant-based drinks based on volatile compounds. *Foods*, 13(24), 4086. DOI: 10.3390/foods13244086. PMID: 39767028.

Besorolás: Q1
IF: 4,7