



A kép illusztráció / The picture is illustration

A búza „sütőipari minőség” fogalmának alakulása a kezdetektől napjainkig a gabonavegyész szemével – akadémiai székfoglaló előadás részletei

Elhangzott 2014. február 14-én Budapesten az MTA olvasótermében

Kulcsszavak: búzakémia, sütőipari minőség, glutenin, gliadin, sikér, glutenin allélek (HMW, LMW allélek), mixográf, Zeleny készülék, tésztakészítés, sikérerősség, genetika, géntranszformáció, Payne score, protein scoring system, búza genetikai potenciálja, magyar búza minősége, acélosság, PPS modell lisztkeverék jellemzésére;

1. Összefoglalás

A búzafehérjék fizikai és kémiai tulajdonságai alapvetően határozzák meg a búzaliszt sütőipari minőségét, a sikér erősségét. A sikér a polipeptid alapegységekből felépülő makropolimer, a gluteninekből és a monomer jellegű gliadinok keverékéből áll. A gluteninek a tészta rugalmasságát, a gliadinok a tészta plasztikusságát biztosítják. A két fehérjecsoport együttesen adja ki a víz hozzáadására kialakuló sajátságos komplex szerkezetet.

A búzafehérjék csoportosításánál oldható és nem oldható fehérjéket különböztethetünk meg. Az oldható fehérjék csoportjába tartoznak az albuminok és a globulinok. A nem oldható csoportot az előbb említett sikérfehérjék összessége képezi: α -, β -, γ -, és ω -gliadinok, kénszegény prolaminok, kéndús prolaminok, kis és nagy molekulatömegű glutenin alegységek (LMWGS és HMW GS) Ezen fehérjéket genetikai hátterük alapján a nagy molekulatömegű, kénben szegény és kénben gazdag prolaminok csoportjába is sorolhatjuk. A búzafehérje kutatás az utóbbi 25 évben a molekuláris biológia irányába toldott el, amelyet a polimerkémia és a kolloidika módszereivel egészítenek ki. Mára olyan vizsgálati módszerek és berendezések állnak rendelkezésünkre, amelyek segítségével a tésztajellemzők néhány gramm lisztből meghatározhatók. A módszer csúcsteljesítményét a 2 gramm lisztből készített próbapipó sütési próbája jelenti egy gyűszű méretű edényt befogadó speciális kemencében.

A liszt kémiai összetétele és funkcionális tulajdonságai in vivo és in vitro közvetlenül, illetve in vivo közvetetten is vizsgálhatók. Az árpa egy ω -gliadin analógjának, egy C hordeinnek a génjét szisztematikusan módosítva glutenin analóg fehérjéket (ANG) állítottunk elő, változtatva a géntermék méretét, a benne lévő ciszteinek számát és elhelyezkedésüket a polipeptidben. A bakteriálisan expresszált fehérjék minőségre való hatását in vitro inkorporációs kísérletekben vizsgáltuk, végül az optimálisnak ítélt hatást eredményező génnel búza-transzformációt végeztünk. Ezzel a módszerrel olyan transzgenikus búzát sikerült előállítani, amelynek sütőipari minősége 11%-kal haladta meg a kiindulási búza adatait, miközben a dagasztási energiaszükséglet 20%-kal csökkent.

A nemesítés vonatkozásában a tanulmányozott különféle modellek alkalmazásának legfontosabb tanulsága az, hogy a nagymérvű allél-allél kölcsönhatások következtében a minőség javítását célzó nemesítési gyakorlatban egy-egy allél bevitele helyett allélkombinációk kialakítása a kívánatos.

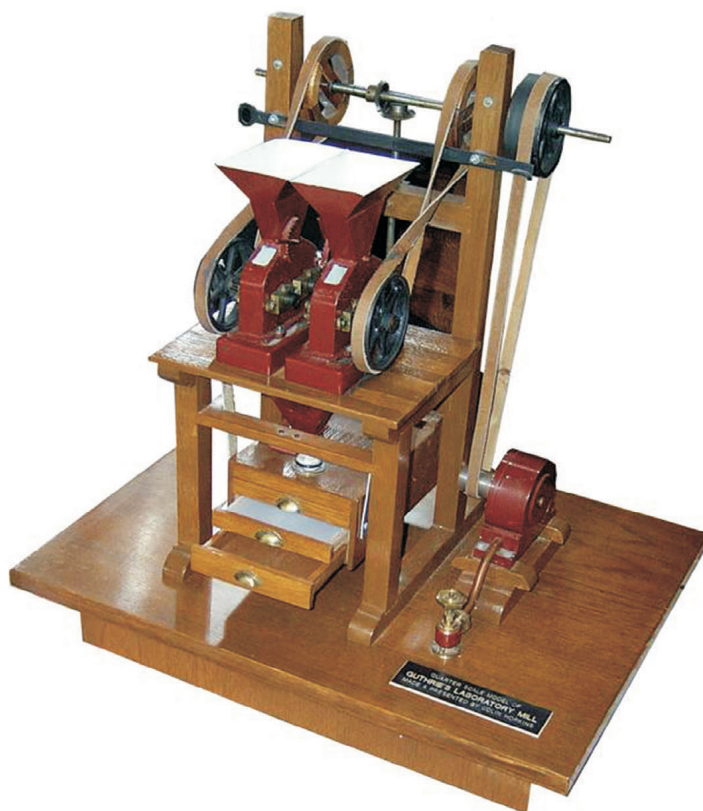
¹ FBFD PTY LTD NSW 2119 Beecroft, 34 Hull Road Australia

¹ FBFD PTY LTD NSW 2119 Beecroft, 34 Hull Road Australia

2. Bevezetés

Az 1880-as évek végén Fredrick Guthrie - az első ausztrál búzanemesítő, William Farrer mellett dolgozó vegyész - egy Budapesten, a Ganz gyárban, promóciós célból gyártott és Ausztráliába került kisméretű, működő malom-modell alkalmazásával **mérésekkel**

összehasonlította Farrer vonalait, meghatározta a lisztkihozatalokat. Így született meg a ma gabonakémiaként ismert szaktudomány, amelyben a kis Ganz hengersizékes próbamalom volt az első laboratóriumi vizsgáló eszköz [106].



1. ábra. Guthrie rekonstruált próba-malma¹
Figure 1. The reconstructed small scale mill of Guthrie¹

Guthrie jutott először arra a gondolatra, hogy a búzanemesítés folyamatában a szelekció egyik fontos kritériuma – a terméshozam mellett – a búza **minősége** legyen. Konceptiója – amely napjainkig a minőségvizsgálatok alapja - az volt, hogy a laboratóriumban az őrlés, a tésztakészítés és a sütés folyamatát a malmi és pékségi berendezésekkel azonos elvű, de arányosan lekicsinyített **modellekkel** vizsgálja. Rekonstruált próbamalma az **1. ábrán** látható.

Az elmúlt másfél évszázadban a búzaminőség fogalomkörébe eső tulajdonság-együttes nagymértékben differenciálódott, bővült. A gabonakémia – a mindenkor tudományos-technikai tudásszintnek és lehetőségeknek megfelelően – igyekszik ezeknek a tulajdonságoknak a meghatározására, értékelésére, előrejelzésére alkalmas metodikákat kidolgozni és

alkalmazni a búzavertikum különféle szintjein, a nemesítéstől a mezőgazdasági termesztésen át a búza tárolása, forgalmazása során illetve a malom- és sütőiparban [18],[19].

Évezredes empirikus tapasztalat, hogy a készülő tészta konzisztenciája alapján a pék képes eldönteni, hogy mennyi vizet használjon a dagasztásnál, és mennyi ideig dagasszon egy adott lisztből készült tésztát. Ez adta az alapot a búzakémia fogalomrendszerének kialakításához az empirikus reológiai fogalmak és az azok meghatározására szolgáló műszerek kidolgozásához, annak felismeréséhez, hogy a kiváló minőségű kenyér készítésének kritériuma a sikérerősség és nyújthatóság egyensúlya a tésztában [105].

¹ A rekonstruált Guthrie által használt malom-modell Sydney-ben, a CSIRO Búzakutató Intézetében volt éveken át kiállítva, majd annak Canberrába történő átköltözésekor elkallódott. 2012-ben egy lomraktárban találták meg és vitték vissza Budapestre, a Sydney-i Deák Ferenc kör nagyvonalú segítségével. Ma az Öntödei Múzeum Ganz-gyűjteményének féltve őrzött darabja.

¹ The reconstructed model-mill used by Guthrie has been on exhibition in Sydney, at the CSIRO Wheat Research Institute for many years, and later on, during the relocation of the Institute to Canberra, it was lost. In 2012 it was found in a lumber room and was taken back to Budapest, through the generous support of the Sydney Deák Ferenc circle. Today, it can be found at the Foundry Museum, Budapest, as a treasured piece of the Ganz collection.

The evolution of the term “baking quality” of wheat from the beginning to present time through the eyes of a cereal chemist – a brief extract from an inaugural academic lecture

Presented at February 14, 2014 in Budapest, MTA, Reading Hall

Ferenc Békés, external member of MTA¹

Keywords: wheat chemistry, baking quality, glutenin, gliadin, gluten, glutenin alleles (HMW, LMW alleles), mixograph, Zeleny apparatus, dough, gluten strength, genetics, transformation, Payne-score, protein scoring system, wheat genetic potential, the quality of Hungarian wheat, wheat hardness, PPS model to describe mixed flour

1. Overview

Principally the physical and chemical properties of wheat proteins determine the baking quality of wheat flour and the strength of gluten. Wheat gluten, a unique complex compound is formed during dough mixing from interacting hydrated glutenin and gliadin proteins of the flour. Glutenins are the macropolymers, built up by polypeptide subunits, gliadins are monomer type single polypeptides. The glutenins are responsible for the elasticity of the dough, while the gliadins are responsible for the plasticity.

Wheat proteins can be distinguished as soluble and insoluble proteins. The soluble proteins belong to the groups of the albumins and globulins. Numerous polypeptides form the group of the insoluble proteins group, the above mentioned gluten proteins: α -, β -, γ - and ω -gliadins, low and high molecular weight glutenin subunits (LMW GS and HMW GS, respectively). Based on the genetic background of these polypeptides they also can be grouped as sulphur poor, sulphur rich and high molecular weight (HMW) prolamins.

Research activity on wheat proteins has shifted in the direction of molecular biology during the last 25 years, supported by polymer- and colloid chemistry. Nowadays, with the applications of available methods and new analytical equipment allow the determination of the dough properties using just a few grams of wheat sample. As the state of the art of these methods, it is possible to make a baking trial from 2 grams of flour in a thimble sized special oven.

The chemical composition and functional properties of flour can be examined directly or indirectly in *in vivo* and *in vitro* conditions. The gene of an ω -gliadin analogue of barley, called C hordein, has been systematically modified to produce analogue glutenin proteins (ANG) by varying the size of the gene as well as the number and location of cysteine groups in the polypeptide. The effects of supplementing the bacterially expressed ANG proteins into the flour on the mixing properties have been tested by *in vitro* incorporation experiments and the optimal gene variant has been selected for wheat transformation. The successfully produced transgenic wheat showed an 11% improvement in baking quality, while the mixing energy consumption decreased by 20%.

In the light of wheat breeding, the most important outcome of these model based investigations is that, instead of targeting the introduction of a certain individual allele of HMW GS, it is more desirable to construct different allele combinations, because the high impact of the allele-allele interactions.

2. Introduction

In the late 1880s Frederick Guthrie – the cereal chemist who worked with the first Australian wheat breeder, William Farrer, – compared the different wheat lines from Farrer with accurate laboratory measurements, determining the flour yields. He used a small scale model mill, manufactured in Budapest at Ganz factory for promotional purposes and was allocated to Australia. It was the born of the scientific discipline, cereal chemistry and the miniature roller mill from Ganz was the very research instrument applied in this area. [106].

Guthrie first came to the idea that throughout the wheat breeding process the **quality** of the wheat should be the highlighted criteria in the selection process - in addition to the yield what used to be in the focus before. His concept - which today still is the fundamental philosophy of the quality related research - was that, for the proper investigation of milling, baking and pasta-making processes in the laboratory he must apply the same principles as used in the technology by applying proportionately scaled down **models** of mills and bakery equipment's. His reconstructed small laboratory mill is shown in **Figure 1**.

During the last one and half century the attributes for evaluating wheat quality significantly differentiated and expanded. Grain chemistry – according to the state of scientific and technical knowledge - intend to develop and apply methodologies, capable to determine and evaluate, predict these properties, in the whole wheat chain, in wheat breeding, agricultural cultivation, grain storage and distribution, at milling and in the baking industry. [18], [19].

Based on the thousands of years of empirical experience, the baker is capable to determine how much water is needed at the mixing process, and how long he has to mix the dough from a specific flour to prepare the desired dough based on the his checking its consistency by his hand. This empiric experience provided the basis for defining the terms and concepts of empirical rheology and for the development of those essential instrumentations which led us to realize that the essential criteria for the quality of the bread-making is ultimately related to the balance of gluten strength and dough extensibility [105].

3. Wheat proteins and baking quality

At first approximation, the possible use of a wheat sample is determined by two of its properties, grain hardness and the protein content of the grain: the higher protein content, the higher quality products. However it is very important to note that – beyond the protein content - that is equally essential to know what type of proteins are present in what proportion. So, the baking quality of wheat is determined by its protein content and composition.

The all-time knowledge base in relation to the quality attributes on macro- and molecular level is inseparable from the current state of plant biology, genetics, plant protein structure, analytical separation techniques and identification processes.

Beccari in 1728 described that the washing of wheat flour dough with water produces a sticky substance with strange consistency; what he called gluten [6]. One hun-

3. Búzafehérjék és a sütőipari minőség

Egy búzaminta felhasználási lehetőségeit első közelítésben annak két tulajdonsága, a szem keménysége és fehérjetartalma határozza meg: a magasabb fehérjetartalom értékesebb és jobb minőségű termékek előállítását teszi lehetővé. Az azonban rendkívül lényeges, hogy a fehérjetartalmat mely fehérjék és milyen arányban reprezentálják.

A búza sütőipari minőségét nagymértékben annak fehérjetartalma és fehérje-összetétele határozza meg: a minőségi paraméterek makro- és molekuláris szintű értelmezésével, azok meghatározási lehetőségeivel kapcsolatos tudásszint elválaszthatatlan a növénybiológia, a genetika illetve a növényi fehérjék szerkezetével, elválasztási és azonosítási lehetőségeivel kapcsolatos mindenkor ismeretektől.

Beccari 1728-ban írta le, hogy a búzalisztból készült tésztát vízzel mosva egy ragacsos, furcsa konzisztenciájú anyagot, sikért állított elő [6]. Száz évnek kellett eltelnie ahhoz, hogy kiderüljön, hogy a sikér főtömegében fehérje, és további ötvennek, hogy realizáljuk, ez az anyag több mint száz különféle fehérje komplex kölcsönhatásának produkuma. A sikérképző képesség a búzafehérjék unikális sajátossága, erre a búzával botanikai rokonságban lévő növények (rozs, árpa, stb.) fehérjei sem képesek. E tulajdonság illetve a sikér speciális reológiai tulajdonságai avatják a búzát az emberiség egyik legfontosabb élelmiszer-növényévé. Mindennek az okára csak a napjainkra összegyűlt ismeretek alapján tudunk elfogadható magyarázatot adni.



Glutenin

polipeptid alapegységekből
felépülő makro-polimer

Elastikus

Glutenin

macropolymer built up by polypeptides

Elastic



Gliadin

monomer fehérjék

Plasztikus

Gliadin

monomer proteins

Plastic



Sikér

a hidratálódott glutenin- és gliadin-fehérjék
kölcsönhatása által létrejött komplex
szerkezet

Gluten

complex system of hydrated glutenin and
gliadin proteins

2. ábra A búzaliszt sütőipari minőségét alapvetően meghatározó fehérjekomponensek
Figure 2. Baking quality determining protein components

Osborne [68] úttörő tevékenységét követően, amikor is a búza fehérjeit oldhatóság alapján frakcionálva bevezette az albumin-, globulin-, gliadin- és glutenin fogalmakat. Ettől kezdve a gabonakémia fejlődését egyértelműen a gabonafehérjék kémiájával, elválasztás-technikájával majd a későbbiek folyamán az azok genetikájával kapcsolatos fejlődés határozta meg. Ennek többek közt az az oka, hogy a sikérerős-

ség és nyújthatóság említett egyensúlya a búzaliszt gluteninjainak (fehérje-alegységekből diszulfid hidak által felépülő lineáris makropolimerek) és gliadinjainak (monomer prolamin polipeptidek) arányától függ [105]. A sikér, illetve a tészta elasztikus, tulajdonságaiért a gluteninek, míg a plasztikus sajátosságokért a gliadinok felelősek, az előbbi erősíti, az utóbbi gyengíti a tésztát (2. és 3. ábra).

dred years had to pass to find out that the main mass of gluten is protein, and another 50 to realize that, this material is a product of the complex interactions of more than hundred different proteins. The ability of gluten formation is a unique feature of wheat, not found even at the botanically related crops (rye, barley, etc). This property and the special rheological characteristic of gluten made wheat to one of mankind's most important plant food material. Today we can finally provide reasonable explanation for the complex reasons behind this on the basis of our accumulated knowledge.

Following Osborne's [68] pioneering work where wheat proteins have been fractionated according to their solubility, the terms albumin, globulin, gliadin and glutenin have been introduced. Since the progress of the cereal grain chemistry is determined by achievements of protein chemistry and separation techniques, and later on by the genetics of these proteins. The most important reason behind this is the fact that the above mentioned balance between the strength and extensibility of the wheat flour dough are directly related to the ratio of the two gluten protein classes, glutenins and gliadins. The glutenins are macropolymer proteins, consisting from protein subunits bonded by disulphide bridges, while gliadins are monomer polypeptides [105]. The glutenins are responsible for the elastic properties, the gliadins for the plasticity of the gluten, the former reinforces it, and the latter weakens the dough (**Figures 2 and 3**).

In the 80's, the solubility-based Osborne classification system of wheat proteins has been replaced by a new, genetics-based system (**Figure 4**). This allowed relating the proteins of different plant species to each other, to identify the analogous genes and their products in the hexaploid wheat genome and to make comparative analysis on the different alleles. The biological function of the gluten proteins in wheat is a storage function, therefore the natural mutations in the gene pool are not lethal, they are not followed by selection, and thus the mutated genes can be inherited. It is the biological background of the large variation – polymorphism – of storage proteins in wheat [98], [99].

These ideas have been adapted in real practice quickly among the breeders. The High Molecular Weight (HMW) [72], and Low Molecular Weight (LMW) [49] glutenin alleles, and the so called gliadin blocks [64] after electrophoretic separation - become chemical markers, important tools to select the lines with better quality attributes [40].

For a long time, the main focus of research related to the polymeric structure of glutenin and its relationships to quality attributes concentrated on the question whether it is a linear or branched polymer. Based on our nowadays knowledge, in the glutenin polymer HMW glutenin subunits builds up a linear backbone on which branches can be found built up from LMW subunits. The size distribution of the polymeric proteins is a fundamental parameter which determines the gluten strength. The research of Orth and Bushuk [67] revealed that the longest polymers – larger than a cutoff size - have the most impact on the rheological characteristics of the dough. Later on the relative amount of this macropolymers (UPP%) [47], become one of the most essential chemical indicators for quality. Along with other parameters like flour protein content, glutenin/gliadin ratio, HMW/LMW glutenin subunit ratio.

In the last 25 year the rapid development in the genetics and molecular biology of wheat proteins resulted in a

breakthrough in the understanding of wheat quality at molecular level. The new research strategies and techniques based on the three pillar of the central dogma – with the active involvement of other co-science areas (polymer chemistry, colloid science) - made new possibilities to reveal the quality of wheat, wheat flour, and dough, in relation to link it to genetic (G), environmental (E) and technological (T) effects and their complex interaction (G x E and G x E x T) (**Figure 5**). It provided the opportunity to investigate the effects of certain, individual components of the very complex wheat flour matrix. [18].

4. Functional investigations in micro-scale

For these studies, it was necessary to develop a whole new group of small and micro-scale investigation techniques to carry out these fundamental investigations and then to utilize the outcomes in applied research and at the level of routine measurements. Several novel equipment and methodologies, requiring limited amount of test sample (in extreme cases, one grain of wheat) have been developed and successfully used at the Wheat Research Laboratory of the Australian CSIRO (Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation) partly through a 20-year long Hungarian-Australian collaboration [21], [22], [23], [24], [30], [28], [45]. These devices have become indispensable tools for basic research in wheat chemistry in recent years and - after the establishment commercial productions of certain equipment - these methodologies appeared successfully in those commercial applications where only a small amounts of test samples are available (such as in pre-breeding). Some of the instruments derived from this fruitful partnership are listed here:

- 2g Mixograph [44],
- Micro-Extension Tester [82],
- Micro Noodle Machine [74],
- Micro Z-arm mixer, which is the micro sized version of the still world-wide used valorigraph, developed by the Hungarian Hankóczy at the 30's [95], [50],
- METEFÉM micromill [29], [97],
- Micro Zeleny apparatus [37],
- Micro-gluten washer [96];

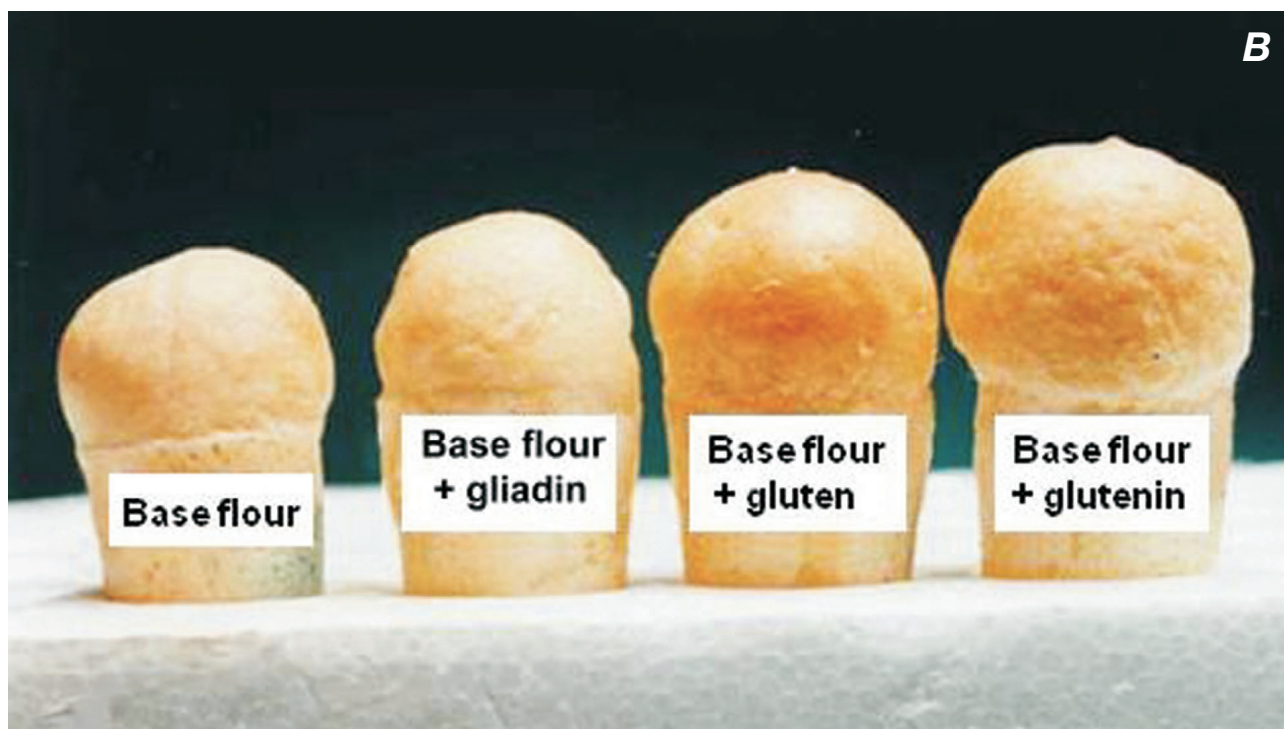
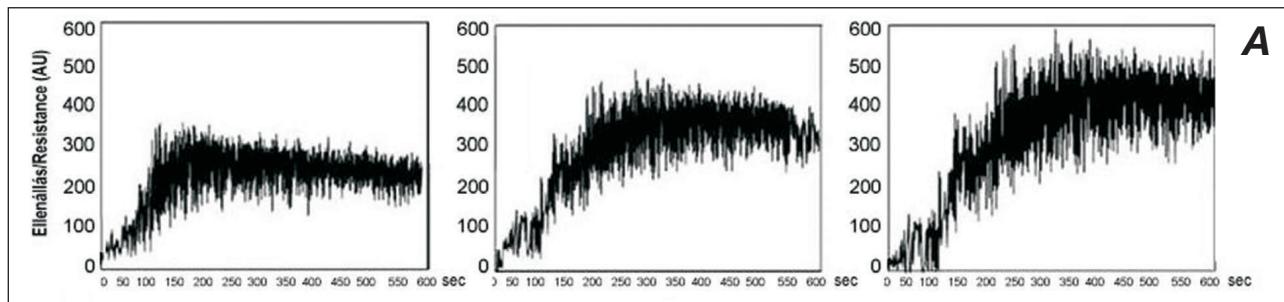
The possibility of determining the characteristics of a dough using only 2-5 grams of flour – and the capability to monitor the effects on the rheological parameters caused by 2-20 mg of supplemented protein - provided a new level investigating structure /function relationships. One of the top performance of these efforts was to bake bread as a baking test, requiring only 2 grams of flour, where the mixed and rested dough was placed in the furnace in a specially made thimble (**figure 6**).

5. Methods relating chemical composition to functional properties

Three different strategic approaches can be applied to examine the relationships between quality related properties and the chemical composition or its genetic makeup (**Figure 7**): applying *in vitro* or *in vivo* direct methods or indirect methodology [39].

5.1. *In vitro* direct methods

In case of *in vitro* methods, the composition of a given sample is systematically altered and the quality/functional changes are monitored. This method was developed from the so-called reconstruction methodology, where two or more flour/dough samples have been fractionated into their main components (starch, gluten, soluble com-



3. ábra A glutenin/gliadin arány hatása a tészta dagasztási tulajdonságaira (A) és a kenyértérfogatra (B)
 Figure 3. Effect of the glutenin/gliadin ration on the mixing properties (A) and on the bread volume (B)

Az Osborne-féle, oldhatóság alapján kidolgozott felosztást és nevezéktant a 80-as években a genetikai alapokon álló rendszerezés váltotta fel (4. ábra). Ez lehetővé tette a különböző növényfajok fehérjéinek megfeleltetését, a hexaploid búza három genomjában lokalizált azonos funkciójú gének illetve termékeik identifikálását, a különböző allélek összehason-

lító vizsgálatát. A sikérfehérjék biológiai funkciója a búzanövényben raktározási funkció, így a természetes mutációval előálló módosulások a genetikai állományban nem letálisak, azokat nem követi szelekció, tehát öröklődnek. Ennek eredményképpen alakult ki a raktározási fehérjék nagymértékű változatossága [98], [99].



A kép illusztráció / The picture is illustration

ponents), and these fractions have been systematically combined, monitoring the functional parameters. In case of the so called “base flour method” an isolated component is added to the flour during the mixing process and the functional properties, determined, are compared with those of the original base sample. In this studies, it was possible to use products of native and/or genetical modified genes produced by heterologous expression in *E. coli* instead of the very complicated and labour intensive isolation of individual flour protein components [92]. The experimental design in case of supplementing monomeric proteins is simple and problem-free [42], [102], while in the case of polymeric subunits it must be ensured that the supplemented polypeptide – like in case of the *in vivo* situation – becomes the integral part of the protein polymer. The technique to build glutenin subunits into the glutenin polymer is called “incorporation”, which consist a partial reversible reduction and subsequent reoxidation step during mixing process carried out in the mixing bowl. (Figure 8.) [25], [26].

Applying the incorporation technique, a direct relationship has been successfully demonstrated between the size of the natural HMW glutenin subunits and gluten strength [20], [101]. These results were confirmed with the use of bacterially expressed, gene modified HMW glutenin subunits [3], [2]. The analogue experiments with LMW glutenin subunits showed similar, but lower effects in accordance the smaller size of the polypeptides both in the case of isolated [83], and bacterially expressed proteins [63]. The chemical structure of HMW and LMW glutenins, namely the number and location of cysteine groups in the polypeptide also showed strong effects on the functional properties [85].

The optimized parameters of the chemical processes, namely the concentration of the reducing and oxidising agents and the reaction time ensure that, - as it is shown on Figure 8/A - the functional properties are remaining unchanged, so the alteration in the measured parameters originated from the incorporated subunit, marked with red. (Figure 8/B). Particularly important results have been achieved by the comparative analysis of *Glu-D1d* and *Glu-D1a* alleles (containing Dx5+Dy10 and Dx2+Dy12 polypeptides, respectively.). It was found that the significantly different gluten strength between the investigated samples is originated from the extra cysteine group located on the N-terminal region of the Dx5 subunit [1]. Another remarkable observation was achieved when the four Glu-D1 subunits have been incorporated in pairs: synergic effects on the mixing properties and gluten strength was found when the x and y type subunits were incorporated in equimolar amounts [20].

The original idea of the **model-flour method** was inspired by the Chemoton-theory of Gánti [43]. The aim was to develop an experimental design, capable to study the dough as a unit system²: to build up the simplest model flour, which have analogue properties like the gluten or a real dough matrix with the minimal number of the components using starch, lipids, and different individual isolated wheat proteins. Mixing the gliadin protein with *in vitro* synthesized polymers of HMW and LMW glutenin subunits, and by the addition of starch, soluble components, lipids resulted in somewhat similar mixing characteristics like a real dough, but it was found that to model the typical visco-elastic properties, the system must contain more polypeptide from each of the three main gluten protein components. In the light of this experiment the unique na-

ture of wheat flour dough can be postulated: because of the the large level of polymorphism of storage proteins in the hexaploid wheat, the physical and physico-chemical properties of the dough - such as the size of the aggregates, the surface charge distribution etc.- can be interpreted as continuous parameters in large intervals as a result of the interactions among the huge number of very similar polypeptides.

5.2. *In vivo* direct methods

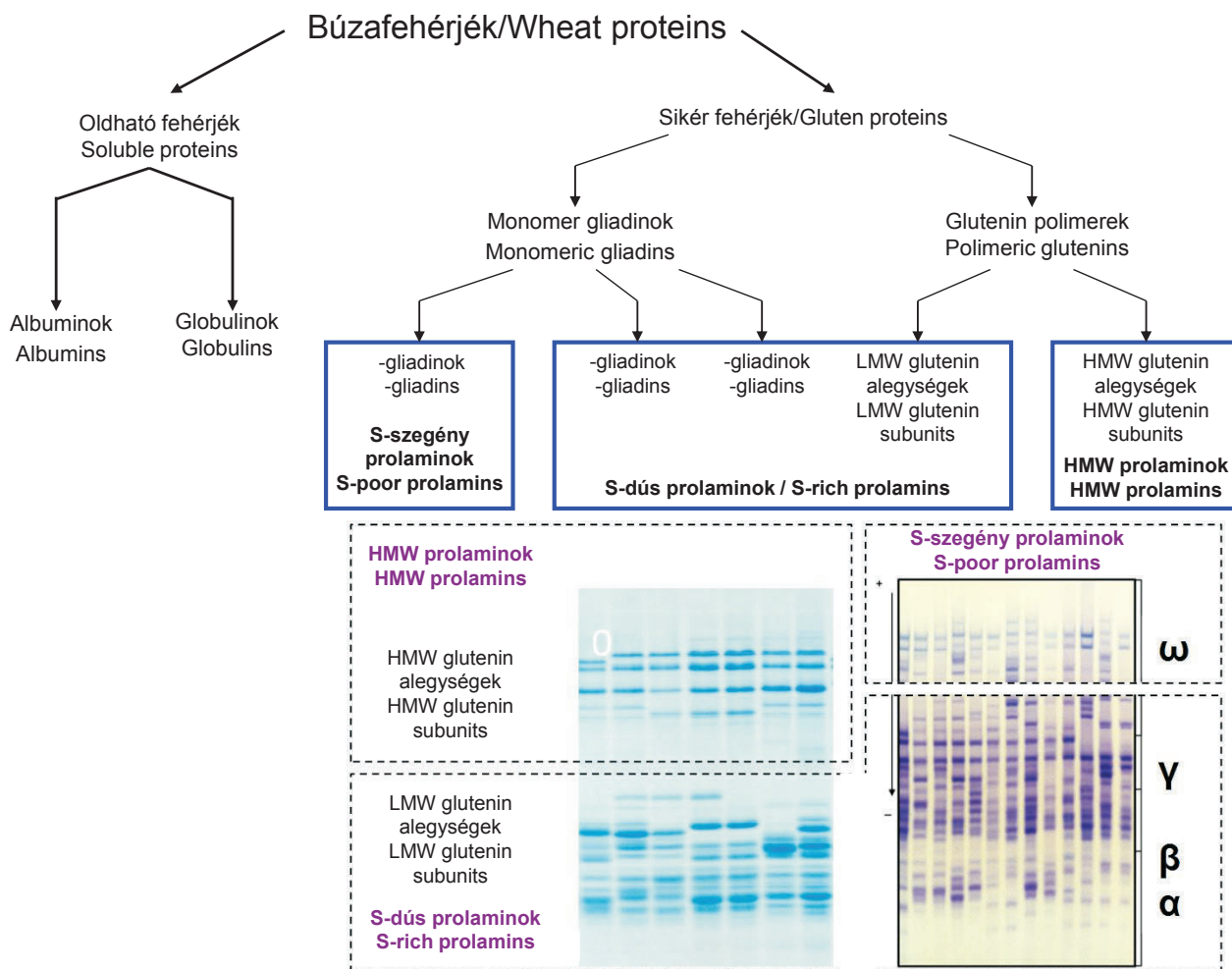
The direct proof of usefulness of the *in vitro* incorporation methodology carried out on small-scale dough testing machinery was provided by the functional characterisation of genetically modified wheat transforms with altered glutenin composition. After introducing the missing genes of different glutenin subunits into certain members of the HMW glutenin null set of produced by Lawrence and his co-workers [62], the mixing properties of this genetically modified wheats were in agreement with those found with the analogue incorporation experiments. (Figure 9.)

The primary objective of the large number of wheat transformation attempts with wheat storage protein genes [14], [51], [52], [70], [76], [79], [80], [81], [87], [86], [85], [93], [94] has not been to produce germplasm what can be used at the pre-breeding phase for quality improvement, rather they were aimed to study the effects of introduced native or genetically modified wheat or non-wheat genes on the quality parameters *in vivo*. In this regard, the experiments carried out by Tamás et al. [90], [91] are worth to especially mention. Glutenin analogue proteins (ANG) with the modification of an ω-gliadin analogue C hordein gene from barley have been produced changing the size of the gene product and/or altering the number and location of cysteines in the polypeptide. The effects on the quality of the base flours, caused by incorporation of the products of these genetically modified ANG genes produced by bacterial expression have been monitored throughout *in vitro* experiments (Figure 10.), finally wheat-transformations have been carried out using the gene that provided the best results in the *in vitro* experiments. Using this procedure the transgenic wheat containing the gene of polypeptide with the optimised structure, showed an 11% improvement in baking quality, while the energy consumption of dough mixing decreased by 20% [53].

Comparing the behaviour of the transformants with the results of the *in vitro* incorporation experiments, certain limitations of the *in vitro* technique also have been observed. With the exchange of the C-terminal region of Dx5 and Dy10 subunits, the Dx5-Dy10 hybrid *in vivo* produced an intramolecular disulphide bridge, which functioned as a chain terminator while the *in vitro* investigations could not predict such structural anomaly.

5.3. *In vivo* indirect methods

During the past 30 years, huge amount of genetic, biochemical and quality data have been collected and applied to establish databases and mathematical models. These informations have become widely used in grain science to explore the relationships between genotypes and phenotypes, both in basic and in applied research. The success of Payne-score [73] in wheat breeding improved the selection for quality and made it more effective as well as contributed to better understand the basic questions and the cause/effects relationships in wheat genetics and wheat chemistry. Parallel with the wide spread and the successful applications of the Payne-score, as early as the 90's active research has been initiated aimed to de-



4. ábra. A búzafehérjék oldhatóságán illetve genetikai elveken alapuló felosztása [84]. Az ábra alsó harmadában bemutatott fotók a fehérjék méret-, illetve töltéskülönbségein alapuló elektroforetikus elválasztását szemléltetik.

Figure 4. The solubility- and the genetics based classification of wheat gluten proteins [84]. The photos in the lower third of the figure show the proteins separated by their size and charge differences by using different electrophoresis techniques

Ezen ismeretek igen gyorsan gyakorlati alkalmazást nyertek a nemesítők körében. Az elektroforetikus meghatározott nagy molekulatömegű (HMW) [72], és kis molekulatömegű (LMW) [49] glutenin allélek illetve gliadin "blokkok" [64], mint kémiai markerek a minőségre történő szelekció fontos eszközévé váltak [40].

A glutenin polimer szerkezetével illetve ennek a minőségi paraméterekkel való viszonyával kapcsolatos kutatások homlokterében hosszú ideig a polimer lineáris illetve elágazásos volta állt. Ma már tudjuk, hogy a polimer HMW glutenin alegységekből felépülő lineáris vázához az LMW alegységek elágazó láncok formájában kapcsolódnak. A polimer méreteloszlása alapvető paraméter a sikérerősség szempontjából. Orth és Bushuk [67] kutatásai rávilágítottak a leghosszabb polimerok kitüntetett szerepére a sikér reológiai sajátosságainak kialakításában. Ez, a később makropolimernek nevezett frakció relatív mennyisége (UPP%) lett [47], a liszt fehérjetartalma, a glute-

nin/gliadin arány és a HMW/LMW glutenin alegység arány mellett a kémiai alapú minőségvizsgálat legfontosabb paramétere.

Az elmúlt 25 évben a genetika és búzafehérjék molekuláris biológiája rohamos fejlődésének köszönhetően áttérés következett be a búza minőségét meghatározó molekuláris szintű alapok megismerésében. A centrális dogma három alappillére épülő új kutatási stratégiák és technikák, a társtudományokkal (polimerkémia, kolloidika) karöltve lehetőséget teremtettek a búza-, a búzaliszt- illetve a tésztaösszetétel genetikai (G), környezeti (E) és technológiai (T) tényezőktől való függésének, továbbá ezek gyakran bonyolult (G x E illetve G x E x T) kölcsönhatásainak feltárására (5. ábra). Így a rendkívül bonyolult kémiai összetételű búzaliszt komponenseinek egyedi hatásait illetve az egyes komponensek kölcsönhatásával kapcsolatba hozható hatásokat meg lehetett határozni [18].

velop new models which exceed the capability of Payne score [46], [48], [41], [27], [17], [39].

The novelty of these new models is four-fold:

- These mathematical models are capable to predict both gluten strength and extensibility;
- They can consider the effects of several HMW glutenin alleles which were not involved in the original Payne-score;
- Having realised that the rheological properties of the dough is influenced not only by the HMW glutenin alleles but LMW glutenin alleles have significant impact largely on extensibility, and additionally, the allele-allele interactions also have a significant effect, the new models like the “Wheat Simulator” developed by Eagles and his co-workers [41] or the Protein Scoring System (PSS) [27] describe the gluten strength and extensibility as the sum effects of the individual HMW and LMW alleles and their interactions;
- Unlike the arbitrary factors of Payne-score, the two above mentioned models use factors for the characterisation of the contributions of the alleles and their interactions, determined by special regression techniques. The rheological properties of the samples are defined by the genetic potential of the glutenin alleles and the parameters are predicted in the dimensions of “Rmax” and “Ext” determined on the Extensograph.

The numerous applications reported in the scientific literature [41], [34], [27], [39], [66], [7], [61], [65], [75] clearly proved that, the prediction models with appropriate caution in selecting the database and the statistical methods are capable to predict the most important rheological parameters of the bread dough and predict the *genetic potential* of the wheat based on the glutenin allele composition. These genetic data with some additional parameters determined by the growing conditions such as the protein content and glutenin to gliadin ratio, the actual gluten strength and extensibility of a sample can be estimated, therefore the PSS model and similar models are useful for developing breeding strategies, and solving quality control tasks in the grain industry.

In relation of breeding, the most important outcome of the above models is that because of the high level of allele-allele interactions, integrating *allele combinations* instead of targeting the introduction of a certain allele is the more desirable strategy during quality orientated selection in breeding [27].

One of the many examples of food industry related applications of the PSS model is mentioned here. The model is suitable to describe not only the rheological properties of individual samples, but - with the knowledge of allele composition and blending formulation - it is also capable to describe the properties of the flour blends of different wheat varieties. It is important, because the core problem of the flour blending technology in the industry is that the quality parameters are not additive: Because of the interaction between the blended components, synergic effects and inhibition occurs, therefore the weighted average of the quality parameters of the components is not equal with the real, measured quality of the blend. The PSS model is able to overcome this problem, even using it as aim-function for solving the inverse problem, it also provides an opportunity to optimise the formulation, providing the blending formulation for the desired quality of flour blend [17] using a similar principle like the ‘least-cost’ optimization.

A method has been recently developed by Oszvald et al. [69] for the experimental determination of α and β coefficients describing the of individual and interactive of increments HMW and LMW glutenin subunits in the PSS model. Throughout two incorporation experiments carried out with rice and wheat flours as base flours, the individual and interaction based effects can be separated: the individual effects of the incorporated protein can be determined from the rice flour mixing while in case of wheat flour, the resulting alteration of the mixing properties is the sum of the individual effects and those derived from the interaction of the supplemented protein with the prolamins in the wheat base flour.

6. About the quality of the Hungarian wheat

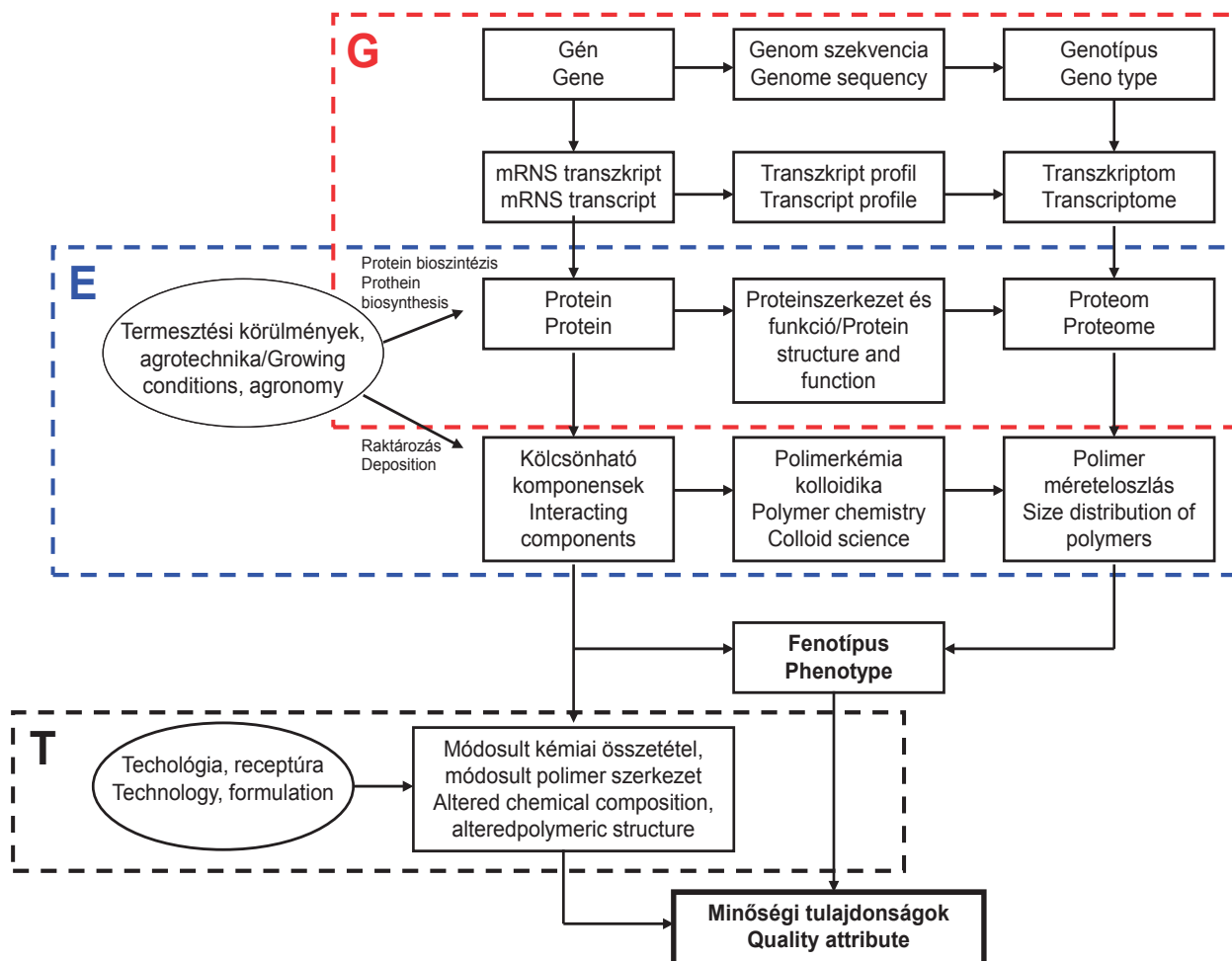
Utilising the good climatic and agronomic conditions of the Carpathian Basin, high-quality wheat has been cultivated here for thousands of years. During certain historical periods this product has been exported to considerable parts of Europe. Beyond the environmental conditions, the ultimate basis of the high quality, namely the reasonably high gluten content and the good elasticity, is the special gene pool found in the landraces of this region which has been successfully conserved and improved by the spontaneous selection followed by conscious breeding.

The gene pool of the Carpathian landraces and cultivars – at least in case of the storage protein genes – show a number of specific features. As the results of research undertaken continuously from the 80s [9], [11], [12], [13], [77], [78], [75], [56], [57], [7], [61] show that the best of the old Hungarian landraces, such as Bánkúti 1201 contains two HMW GS alleles with superior contribution to the gluten strength. These are the *Glu1-Ax* [55], [57], [36] and *Glu1-Bal* [59], [36] alleles, the containing the Ax2*B and the overexpressing Bx7 subunits, respectively. The presence of these alleles is coupled in the superior cultivars with an interesting expression feature which typical for the regional wheat cultures. The wheat varieties cultivated in the Carpathian Basin show higher than usual gluten-content which come from the significantly higher gliadin content. So, the molecular explanation of the excellent and outstanding baking quality of these landraces is the presence of ‘good’ glutenin alleles providing strong and stable gluten and the low, balanced glutenin/gliadin ratio ensuring good extensibility.

In recent years, the aims of the conscious breeding efforts are to exploit the potential of this special gene pool at „Hungaricum level” and to implement the old Hungarian landraces into the breeding programs for quality improvement. The first promising results of this activity are the Mv Karizma variety which contains the pedigree of the Bánkúti 1201, and the „Pannon wheat” consortium, established by many Hungarian researchers, breeders, distributors and users, with the aim to improve the good appreciation of Hungarian wheat at international level [10].

7. Recent quality-oriented wheat research trends, new challenges

In recent years the new challenges originated from the demands of the industry and the consumer, altered the traditional priorities of quality related research and development in two directions. In the industry it become essential to implement processes capable to reduce the production cost of the end-products and therefore to use source materials, new genotypes which are suitable for these technological challenges. New requirements such as the need for wheats with less mixing energy requirement but



5. ábra. A kémiai összetétel és a minőségi tulajdonságok összefüggésének sematikus vázlata, a genetikus (G), környezeti (E) és technológiai (T) hatások illetve az ezek nyomkövetésére alkalmazott technikák feltüntetésével [18]
 Figure 5. Schematic diagram of the chemical composition and quality attributes in the context of genetic (G), environmental (E) and technology (T) effects and with the indication of techniques used in the follow-up processes [18]

4. Funcionális vizsgálatok mikro-méretben

Ezen alapkutatási szintű vizsgálatok elvégzéséhez, majd ezek eredményeinek az alkalmazott kutatásban illetve a rutin vizsgálatok szintjén történő alkalmazásához a búzaminősítés eszköztárának egy teljesen új csoportját, a kis- és mikroméretű vizsgálati technikákat kellett kidolgozni. Olyan berendezésekre és metodikákra volt szükség, amelyek limitált mennyiségű vizsgálati minta (extrém esetben egy búzaszem) felhasználását igénylik [21], [22], [23], [24], [30], [28], [45]. Az ausztráliai CSIRO (Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation) Búzakutató Laboratóriumában kifejlesztett készülékcsalád berendezései illetve az immár 20 éves magyar-ausztrál együttműködés keretében kifejlesztésre került berendezések az alapkutatás nélkülözhetetlen eszközévé váltak. Több készülék sorozatgyártása és kereskedelmi forgalomba kerülése után sikeres alkalmazást nyert minden olyan gyakorlati területen, ahol csupán kis mennyiségű vizsgálati minta áll rendelkezésre (pl. előtenyésztés, pre-breeding). Az alábbiakban felsorolok néhány kifejlesztett berendezést az itt említett kutató-fejlesztő tevékenység eredményeiből:

- 2g Mixograph [44],
- Mikro-Extension Tester [82],
- Micro Noodle Machine [74],
- Mikro Z-karú dagasztó, amely a Hankóczy által a 30-as években kidolgozott és mind a mai napig világszerte használt Valorigráf mikro-változata [95], [50],
- METEFÉM mikromalom [29], [97],
- Mikro Zeleny apparatus [37],
- Mikro-sikérmosó [96];

A tésztajellemzők 2-5 gramm lisztből történő meghatározási lehetősége az, hogy 2-20 mg izolált fehérje hatását a reológiai paraméteren reprodukálható módon detektálni lehet, a szerkezet/funkció összefüggések újabb szintjén adott lehetőséget a vizsgálatokra. A metodika alkalmazásának csúcsteljesítményét a 2 gramm liszt felhasználását igénylő mikrokenyér-sütési próba jelentette, ahol a megdagasztott és pihentetett tészta gyűszűben került a speciális kemencébe (6. ábra).

stable, strong dough, or the increased demand for higher water absorption are good examples for this industry-driven trends. The other major revolutionary change in the term 'quality' is caused by the consumer's strong demand to get healthier, more nutritious but low-calorie containing baked goods in a wide product range satisfying even those individuals who are sensitive to gluten containing products.

This latter requirement forces the quality-improving professionals to characterize wheat proteins on a completely different level with the contribution of plant biology, food science and technology moreover with the assistance of medical research. The types of the wheat sensitivity disorders with different mechanism but the same or similar symptoms are established recently [88], furthermore the amounts of the wheat proteins with the triggering toxic or allergen epitopes are much more clarified as the results of the intensive proteomics research in this area. In this context the extent of the toxicity/allergic effect of the wheat samples [58], the genetic background of the diseases and their prevalence also subjects of intensive research activity [104]. Completely new manufacturing and product development areas have been evolved for gluten-free bakery product manufacturing [5]. Intensive research investigations are carried out regarding to seeking or to develop new wheat genotypes, wheat analogues at both levels of basic and applied research. According to the clinical results, for patients suffering from the most severe wheat caused disease (celiac disease) the only treatment is the gluten-free diet, while most of those who are allergic to wheat-made products are able to tolerate products manufactured from certain *Triticum spelta* genotypes [89], [104]. An adequate example for successful application of the molecular biology research in this area is the results of Breen et al. [35], where a possible cause of the decreased allergenicity of a spelt line was found: this germplasm contains a mutated form of the allergenic expensin protein. The presence of three extra amino acids in the mutant modifies the conformation of the receptor-binding loop, eliminating the biological effect.

These new requirements with enhanced emphases on quality appeared in an era when the whole wheat production/commerce/utilisation chain going through a significant shift, altering the conditions for the economically feasible, profitable production of wheat in the world market. The fact that the cheap but lower quality products of the new "players" of the wheat market (e.g. Kazakhstan, Ukraine, Brazil, etc) reduce the average prices, clearly indicate that the only way for the traditional exporters to protect their status and income to produce enhanced and steady quality. It strongly emphasizes the increased importance of the quality oriented basic and applied research in these countries.

Meanwhile the breeding activity for developing new wheat varieties with better quality and higher yield has also to deal with problems caused by the abiotic and biotic stress and the changing climatic effects as well as with the increasing demand of the processing industry for the consistency of quality. This latter requirement, the need for consistent quality parameters of the source material in the mills and bakeries led the industry to use wheat and/or flour blends exclusively, instead of grain of one single variety. The other consequence has even more important effects on the quality-oriented research and development work: traditionally a baker used to bake bread from bread

flour, water and yeast, while nowadays an average bakery formulation contains 30-35 different additives (emulsifiers, stabilizers and various enzymes). Consequently, the quality of the wheat and the flour, as raw materials, moves more and more away from the experienced quality of the given technology and formula, and the technological factors dominate (T) in the G x E x T effects (**Figure 5**).

As the report of the largest wheat quality research project of all time [66] concludes: the consideration of the optimal allelic composition of the wheat storage proteins is the necessary starting point in the process of developing excellent baking quality but it is solely not sufficient condition. The key question here is that the characterization, interpretation of the genetic background of the individual macro- and micro components of the flour, the qualitative and quantitative aspects of the chemical composition, furthermore its alterations caused by the technology process must be carried out in a complex manner and never on an isolated way. The effects of pentosans and wheat lipids on the flour quality are known for example for a long time. These effects on bread volume have been intensively investigated in the 80s and 90s [33], [60], [71]. Discovering the existence of specific interactions of polar lipids with certain gliadin proteins during dough mixing. The resulting membrane-like structures is responsible for gas retention ability [31], [32]. The interaction of the pentosans with the gluten proteins and their effects on the dough characteristics has been already described in the 70s [54], but the researchers only nowadays start to develop suitable mathematical models to predict the water absorption capacity involving the amounts of pentosans, and that of their interacting soluble proteins, together with the damaged starch content of the flour [75].

The sequencing of the entire wheat genome – a grandiose international research activity - is nearing to be finalised soon providing the molecular basis for the quality-oriented research of the future [15], [38]. The multiple requirements of the different participants of the wheat chain are so complex that the development of specific databases and computer programs have been initiated to help the breeder in ranking the different demands [4]. The successful interdisciplinary efforts in the last five years - where the functional genomics and proteomics, applied immunological techniques together with the traditional grain testing methodologies started to form an integrated tool system – allow us to believe that the very complex requirements on the quality of wheat will be achievable in the future.



6. ábra. A cipótérfogat fehérjetartalomtól való függésének demonstrálása 2 gramm lisztet igénylő mikro sütési próbával. A fehérjetartalmat szisztematikusan változtattuk az alapliszthez (4-es minta) 5, 10 és 15 mg keményítőt (1, 2 és 3-as minta) illetve sikért (5,6,7-es minta) adagolva [99]

Figure 6. Demonstration of the relationship between bread volume and protein content applying a micro baking procedure using 2 grams of flour. The protein content of the same flour has been altered systematically, by supplementing 5, 10 and 15 mg starch (sample 1, 2 and 3) and gluten (sample 5, 6, and 7) to the base flour [99]

5. A kémiai összetétel és a funkcionális tulajdonságok viszonyának vizsgálati módszerei

A kémiai összetétel illetve az ezt minőségileg meghatározó genetikai információ viszonyát a minőség

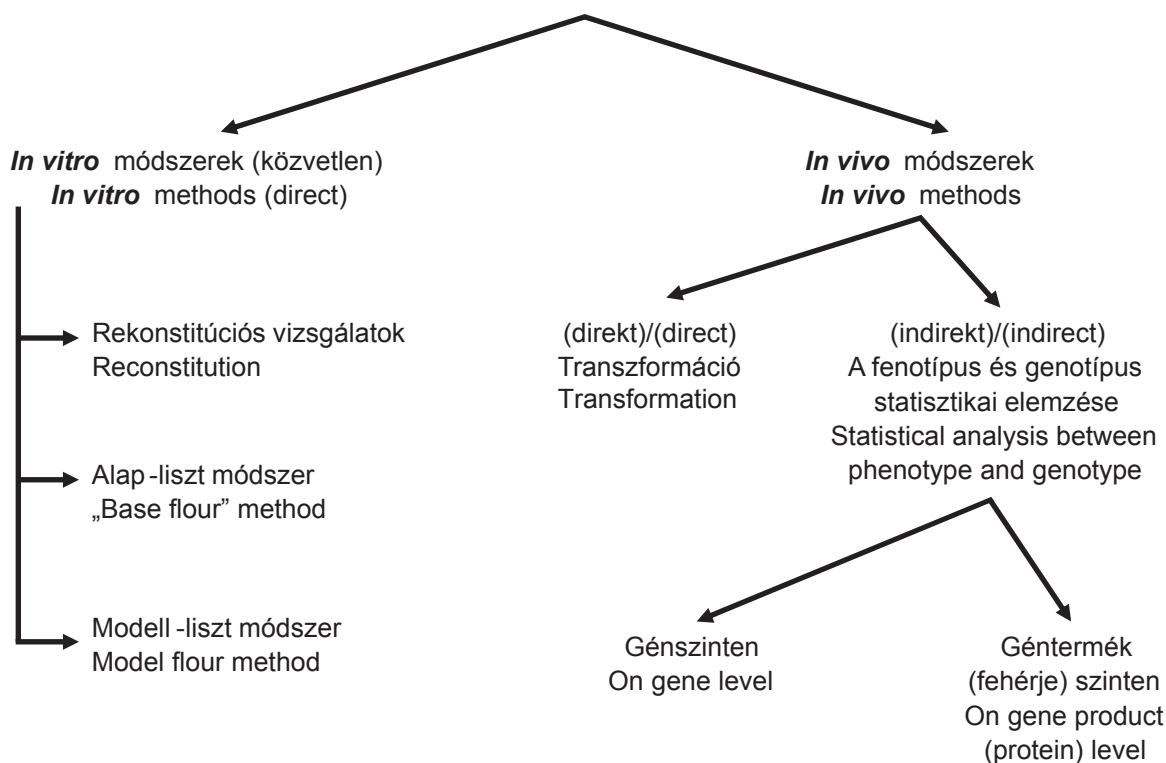
szempontjából fontos funkcionális tulajdonságokkal alapvetően három kísérleti stratégia alapján tanulmányozhatjuk (**7. ábra**): *in vitro* közvetlen, illetve *in vivo* közvetlen vagy közvetett metodikát használva [39].



A kép illusztráció! The picture is illustration

A kémiai összetétel és a funkcionális tulajdonságok viszonyának vizsgálati módszerei

Methods investigating structure/function relationships



7. ábra. A kémiai összetétel és a funkcionális tulajdonságok viszonyának vizsgálati módszerei
Figure 7. Methods for the investigation of the relationship of chemical composition and functional properties

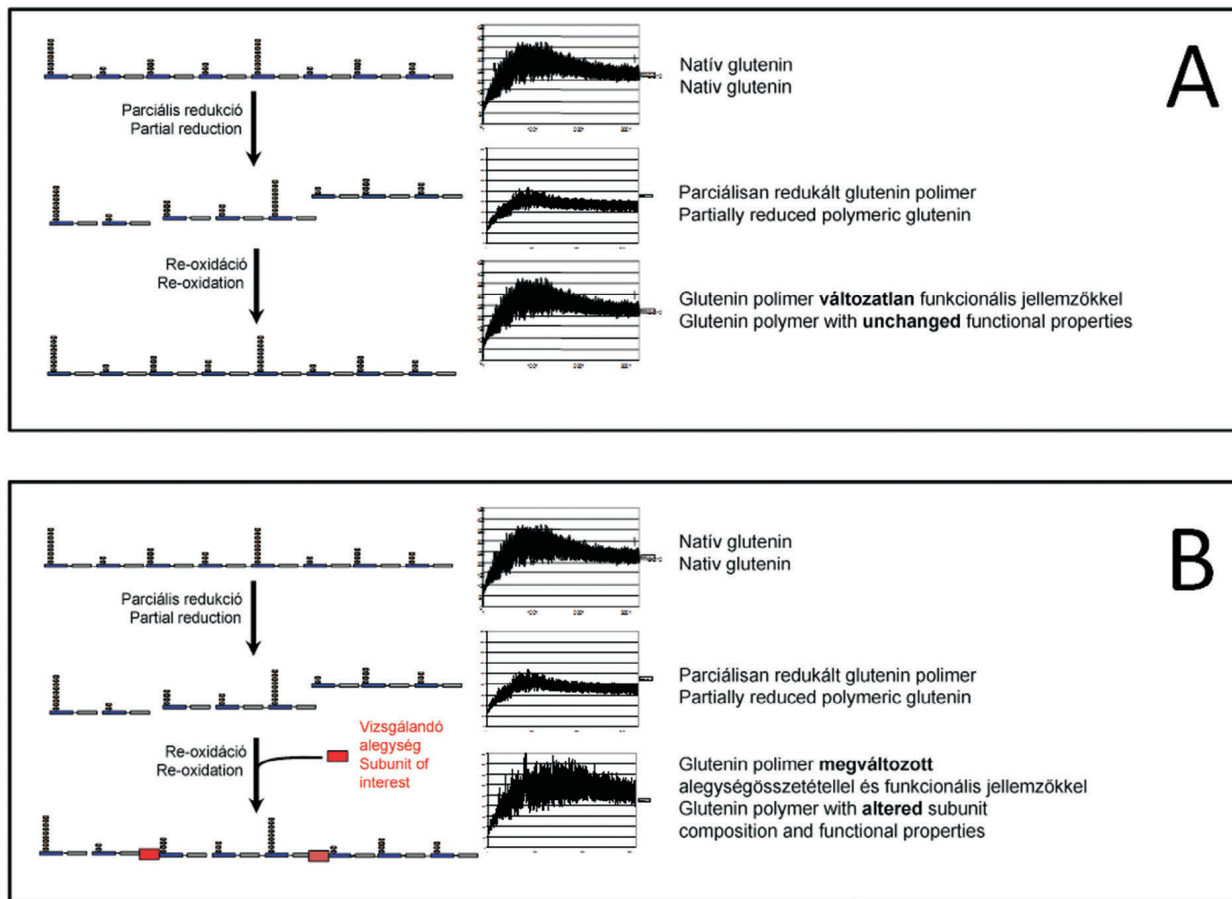
5.1. *In vitro* közvetlen módszerek

Az *in vitro* metodikák alkalmazásakor egy adott minta összetételét szisztematikusan módosítjuk és mérjük a kémiai összetétel hatására bekövetkező minőségi/funkcionális változásokat. A módszer az úgynevezett rekonstrukciós metodikából fejlődött ki, amikor is két vagy több lisztet/tésztát alkotóelemeikre (keményítő, siker, oldható komponensek) bontottak, és szisztematikusan újraegyesítettek, vizsgálva, hogy az egyes funkcionális paraméterek mely komponens jelenlétéhez köthetők. Az úgynevezett alapliszt-módszernél egy adott liszthez tésztakészítés/dagasztás közben egy izolált komponenst adagolunk, és a kapott funkcionális tulajdonságokat az eredeti alapliszt adataihoz hasonlítjuk. A liszt fehérjekomponenseinek rendkívül munkaigényes és költséges kinyerése helyett az adott esetben genetikailag módosított búzafehérje gének termékeinek termeltetése mikroorganizmusokban [92] megnyitotta az utat, hogy ok-okozati relációkat derítsünk fel a szerkezet-funkció vonatkozásában.

A kísérleti technika a monomer fehérjék vizsgálatához egyszerű és problémamentes [42], [102], ugyanakkor a polimer-alegységek esetén a sikeres *in vitro* mo-

dellezés feltételeként gondoskodni kell arról, hogy a vizsgálandó polipeptid – az *in vivo* szituációval analóg módon – a fehérje-polimer integráns részeként fejtsse ki hatását. A glutenin alegységeknek a dagasztási folyamat közben a glutenin polimerbe való beépítésére szolgáló technika, az “inkorporálás” egy reverzibilis parciális redukciós és azt követő reoxidációs lépést tartalmaz (8. ábra) [25], [26].

Az inkorporációs technika segítségével közvetlen összefüggést sikerült kimutatni a természetes HMW glutenin alegységek mérete és sikérerősségre gyakorolt hatása között [20], [101]. Ezeket az eredményeket a különböző hosszúságú repetitív domaineket tartalmazó, génmódosított HMW glutenin gének bakteriális expresszióval nyert termékein végzett kísérletek is megerősítették [3], [2]. A LMW glutenin alegységekkel végzett analóg kísérletek hasonló, a polipeptidek méretével arányosan kisebb hatásokat eredményeztek mind a lisztből izolált [83], mind a bakteriális expresszióval előállított fehérjék esetén [63]. A HMW és LMW gluteninek kémiai szerkezeti sajátosságai között a polipeptidekben található ciszteinnek száma és molekulán belüli elhelyezkedése meghatározónak bizonyult a funkcionális tulajdonságok kialakítása szempontjából [85].



8. ábra A glutenin-polimer parciális redukcióján majd re-oxidációján (A) alapuló inkorporációs metodika (B) sémája és hatása az alapliszt dagasztási görbéjére [25], [26].

Figure 8. Schematics of the partial reduction and followed by re-oxidation of the glutenin polymer (A) and of the incorporation technique (B), with the related mixing curves. [25], [26].

A kémiai folyamatok optimalizált paramétereit, a redukáló- és oxidálószer koncentrációit, illetve a reakcióidőket biztosítják, hogy a **8/A ábrán** ábrázolt esetben a funkcionális tulajdonságok valóban változatlanok maradjanak, így a **8/B ábrán** bemutatott esetben a jellemzők megváltozása valóban a pirossal jelzett alegység beépítésének a következménye.

E vonatkozásban különösen fontos eredményeket hozott a Dx5+Dy10 polipeptideket tartalmazó *Glu-D1d* és a Dx2+Dy12 alegység-tartalmú *Glu-D1a* allél összehasonlító vizsgálata, bizonyítva, hogy a minták sikérerősségében kimutatható szignifikáns különbségért a Dx5 alegység N-terminálisában található extra cisztein a felelős [1]. A négy *Glu-D1* alegység szisztematikus inkorporálási kísérleteinek másik érdekes

eredménye, hogy az x és y típusú alegységek ekvimoláris mennyiségben történő együttes beépülése szinergikus hatásokat eredményez a dagasztási tulajdonságokban és a sikérerősségben [20].

A **modell-liszt módszer** kidolgozásának indíttatását a Gánti-féle Chemoton-elmélet [43] adta. A tészta, mint rendszer egységrendszerének² meghatározására illetve tanulmányozására alkalmas kísérleti elrendezés kidolgozása volt a cél: keményítő, lipidek és különféle egyedi, izolált búzafehérjék keverékéből "felépíteni" azt a legegyszerűbb, legkevesebb komponenst tartalmazó modell-lisztet, amely képes a valósággal analóg reológiai tulajdonságokkal rendelkező sikért illetve tésztát képezni.

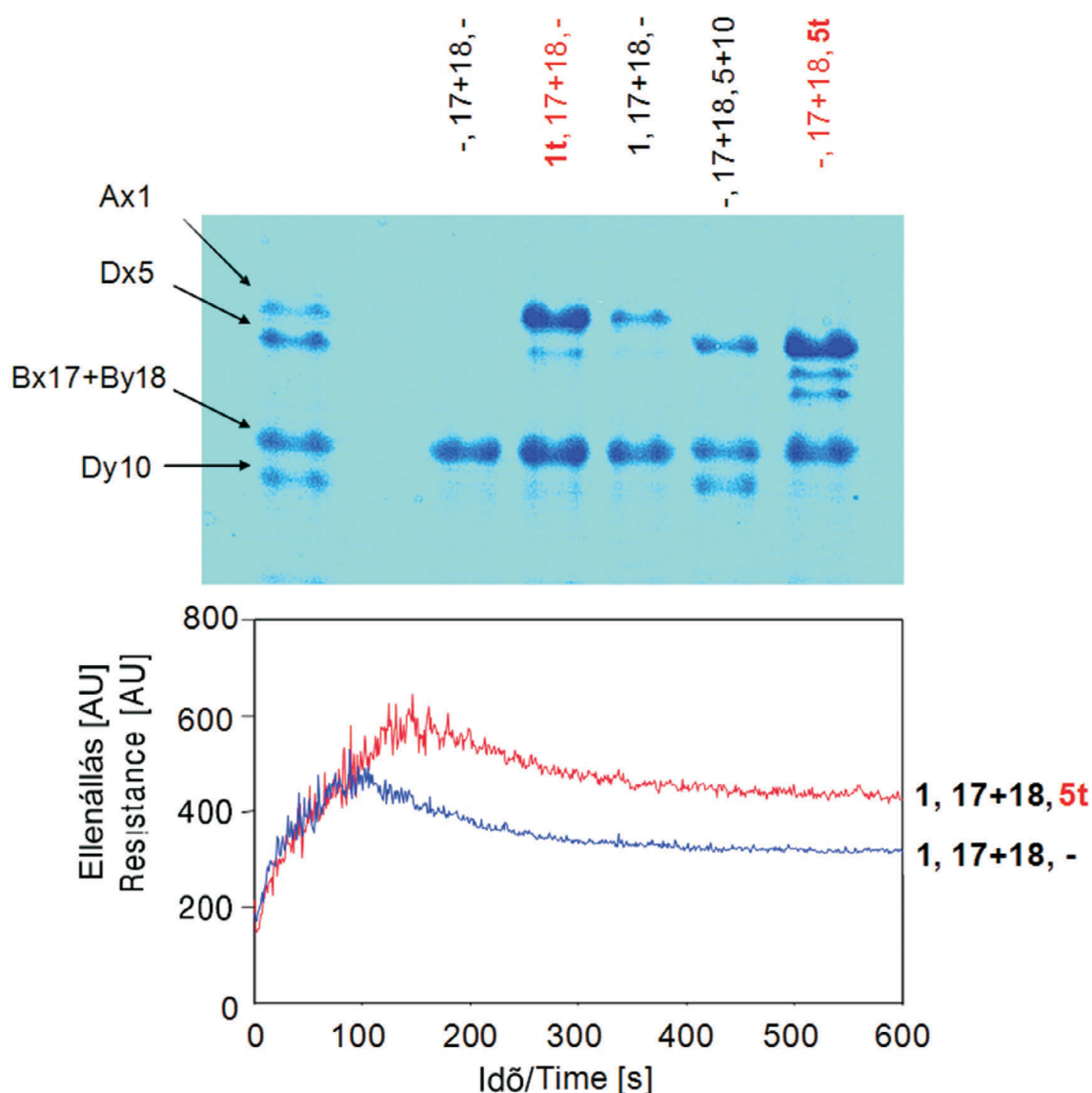
² Egységrendszer alatt azt a minimálrendszert értjük, amelynek bármely komponensét a rendszerből eltávolítva a fennmaradó rendszer nem elégíti ki az eredeti rendszer kritériumait. Míg a Chemoton mint a prokarióta sejt egységrendszere, a sztöchiokinetikai és kinetikai [16] vizsgálatok alapján megfelel a Gánti által megfogalmazott életkritériumoknak [43], a tészta, mint rendszer esetén rendszerkritériumaként annak speciális viskoelasztikus reológiai sajátosságai fogalmazhatók meg.

² The unit system refers to a system, where if any component is removed from the system, the remaining system is not meet with the criteria of the original system. While the Chemoton model referred to the unit system of the prokaryote cell, and used stoichiometric and kinetic studies [16] to meet with the criteria of the life by Gánti [43], dough as a system is defined as a system holding certain viscoelastic rheological properties.

A gliadint, a HMW és LMW glutenin alegységek *in vitro* polimerizációval előállított polimerjével valamint keményítővel, oldható komponensekkel és lipidekkel összevegyítve a liszt dagasztási görbéjéhez valamelyest hasonló görbét kaphatunk, de ahhoz, hogy a tipikus viszko-elasztikus tulajdonságokat modellezhessük, a három sikérfehérje komponensből több polipeptidet kellett a rendszernek tartalmaznia. A búzaliszt unikális sajátossága ezen eredmények tükrében éppen abból adódik, hogy benne a hexaploid genom felépítése és a sikérfehérjéknek raktározási szerepükből adódó nagymérvű polimorfizmusa következtében nagyszámú, egymáshoz igen hasonló polipeptid kölcsönhatásaként az egyes fizikai és fizikokémiai jellemzők – a kialakuló aggregátumok mérete, felületi töltéseloszlása – egy széles tartományban folyamatosan értelmezhetők.

5.2. *In vivo* közvetlen módszerek

A búza genetikai transzformációval előállított módosított glutenin-összetételű genotípusok funkcionális tulajdonságainak mikromódszerekkel végrehajtott jellemzése szolgáltatta az inkorporációs technika használhatóságának legközvetlenebb bizonyítékát. A [62] Lawrence és munkatársai által előállított HMW glutenin null-sorozat megfelelő tagjaiba a hiányzó gént transzformációval bejuttatva [8], a genetikailag módosított minta dagasztási tulajdonságai megegyeztek az analóg inkorporációs kísérletek során kapott eredményekkel (9. ábra).



9. ábra. A minőségjavítási célból elvégzett első búzatranszformáció termékének elektroforetikus és mikro-dagasztási eredményei: a GluD1 gént nem tartalmazó búzavonalba bevitt Dx5 gén terméke szignifikánsan erősebb és stabilabb tésztát eredményez [8]

Figure 9. Micro-scale mixing results with the first transformed wheat-lines, developed for quality improvement: the introduction of the Dx5 coding gene into a wheat line, null for the GluD1 gene, resulted in significantly stronger and more stable dough [8]

A minőségjavítást célzó nagyszámú búzatranszformáció [14], [51], [52], [70], [76], [79], [80], [81], [87], [86], [85], [93], [94] elsődleges célja nem az előnemesítésben felhasználandó, transzformált germplasm előállítás volt, sokkal inkább a technikával bevitt természetes, vagy genetikailag módosított búza- vagy nem búza gének egyes minőségi paraméterekre való hatásának *in vivo* tanulmányozása. E tekintetben a Tamás és munkatársai által végzett kísérletek [90], [91] külön említést érdemelnek. Az árpa egy ω -gliadin analógnak, egy C hordeinnek a génjét szisztematikusan módosítva glutenin analóg fehérjéket (ANG) állítottunk elő, változtatva a géntermék méretét, a benne lévő ciszteinek számát és elhelyezkedésüket a polipeptidben. A bakteriálisan expresszált fehérjék minőségre való hatását *in vitro* inkorporációs kísérletekben vizsgáltuk (10. ábra), végül az optimálisnak ítélt hatást eredményező génnel búza-transzformációt végeztünk. Ezzel a módszerrel olyan transzgenikus búzát sikerült előállítani, amelynek sütőipari minősége 11%-kal haladta meg a kiindulási búza adatait, miközben a dagasztási energiaszükséglet 20%-kal csökkent [53].

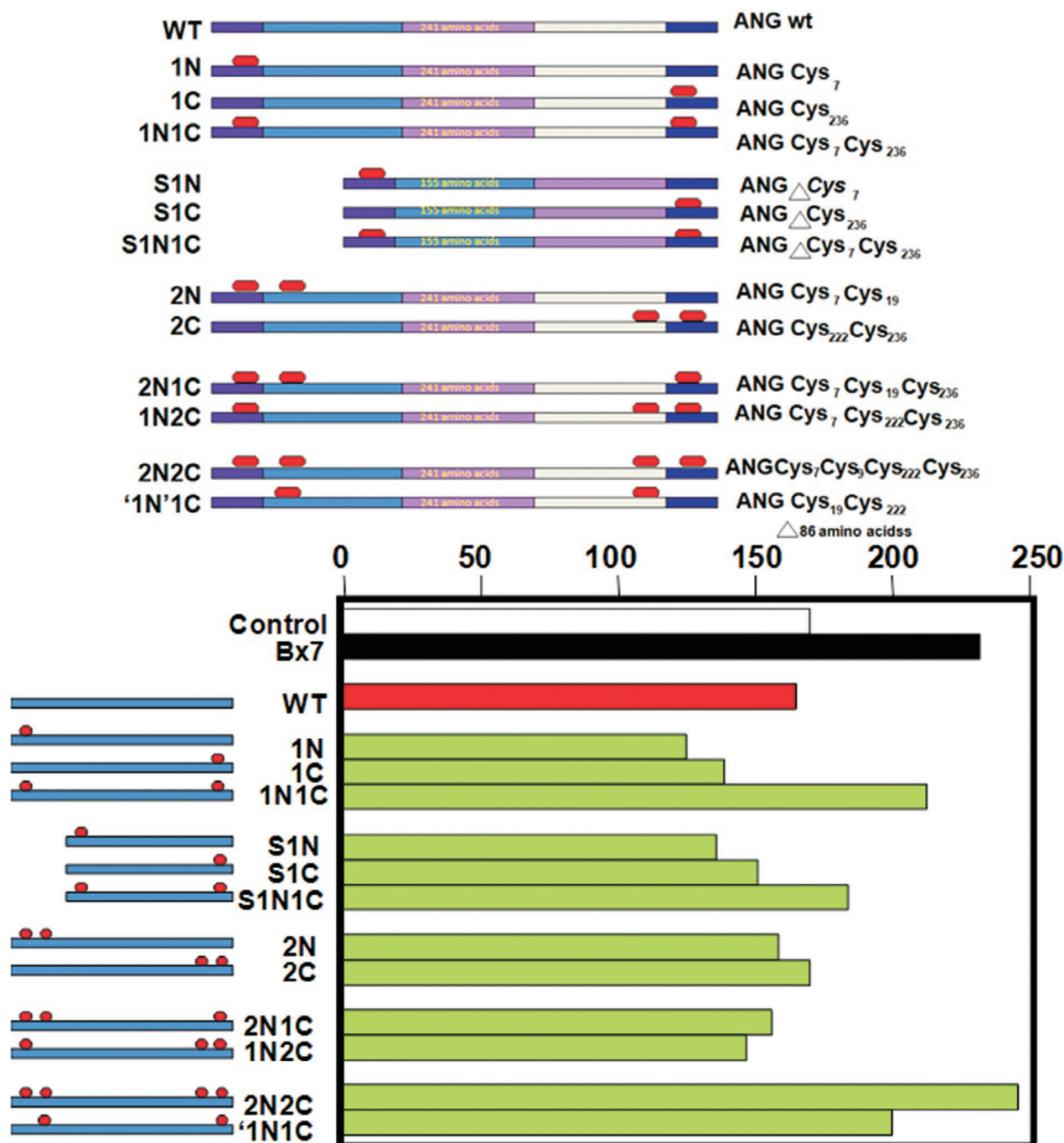
A transzformánsok viselkedésének összehasonlítása az *in vitro* inkorporációs kísérletekben kapott adatok-

kal rávilágított a technika korlátaira is. A Dx5 és Dy10 alegység C-terminális szakaszát felcserélve, a Dx5-Dy10 hibrid *in vivo* egy intramolekuláris diszulfid hidat képezve a polimerizáció során láncterminátorként funkcionál, amelyet az *in vitro* kísérlet nem tudott modellezni.

5.3. *In vivo* közvetett módszerek

Az elmúlt 30 évben a genetikai, fehérje összetételi és minőségi adatok sokéves gyűjtése/értékelése során kapott adatbázisok felhasználásával készült matematikai modellek a gabonatudomány gyakran alkalmazott eszközévé váltak a két tulajdonság-halmaz közti kapcsolatok feltárására mind az alap-, mind az alkalmazott kutatási területeken. A Payne score [73] térhódítása a búzanemesítésben intenzívebbé és hatékonyabbá tette a minőségre történő szelekciót és nagymértékben hozzájárult a búzagenetika és búzakémia számos alapkérdésének ok-okozat szinten történő megválaszolásához. A módszer általános elterjedésével és sikeres alkalmazásával párhuzamosan, már a 90-es években elindult az a folyamat, amely a Payne-score lehetőségeit meghaladni képes modellek kidolgozását célozta meg [46], [48], [41], [27], [17], [39].





10. ábra. Bakteriálisan expresszált genetikusan módosított C-hordein gének termékei (ANG fehérjék), és hatásuk a dagasztási időre in vitro inkorporációs kísérlet során [90], [91].

Figure 10. Genetically modified, bacterially expressed products of C-hordein genes (ANG proteins) and their effects on dough development time during in vitro incorporation study [90], [91].

Az így létrehozott modellek négy vonatkozásban nyújtanak többet az eredeti formulánál:

- A kialakított matematikai modellek mind a sikérerősség mind a nyújthatóság becslésére alkalmasak.
- Számos olyan HMWglutenin allél értékelésére is képesek, amelyek az eredeti Payne-score-ban nem szerepeltek.
- Azon felismerés kapcsán, miszerint a tészta reológiai tulajdonságait a HMW glutenin allélek mellett az LMW glutenin allélek is befolyásolják, továbbá az allél-allél kölcsönhatásoknak is szignifikáns szerepe van, az újabb modellek, mint az Eagles és munkatársai [41] által kidolgozott "Wheat Simulator" illetve

- a Protein Scoring System (PSS) [27] mindezt figyelembe véve a sikérerősséget és a nyújthatóságot a HMW és LMW glutenin allélek egyedi és kölcsönhatásaiból származó hatások összességéként írják le.
- A Payne-score önkényesen felvett együttthatóival szemben a fenti két modell speciális regressziós technikával, statisztikai úton határozza meg az allélek, illetve kölcsönhatásaik jellemzésére alkalmas együttthatókat. Így az adott minta reológiai tulajdonságai, a glutenin allélek által meghatározott genetikai potenciálja az Extenzográfus 'Rmax' és 'Ext' paraméterek dimenziójában becsülhető.

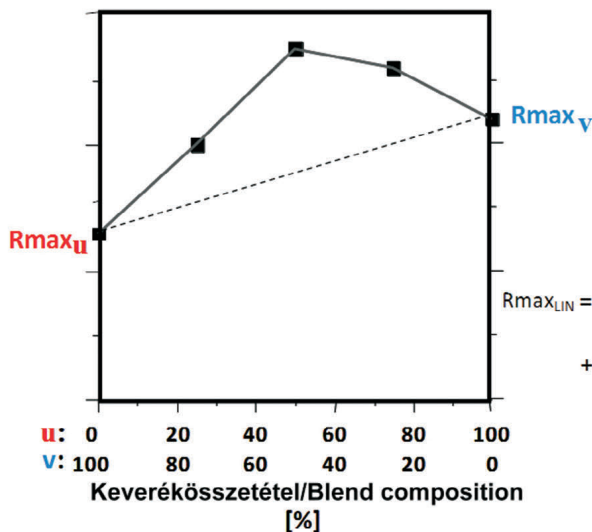
A szakirodalomban közölt alkalmazások [41], [34], [27], [39], [66], [7], [61], [65], [75] egyértelműen bizonyítják, hogy megfelelő körülményekkel választott adatbázison és statisztikai módszerekkel kidolgozott predikciós modellek a búzaminta glutenin alléljeinek ismeretében alkalmasak a kenyértészta legfontosabb reológiai paramétereinek becslésére, a búza *genetikai potenciáljának* előrejelzésére. Ezen genetikai adatokat néhány, a természetesi körülmények által meghatározott paraméterrel, például a fehérjetartalommal és a glutenin/gliadin aránnyal kiegészítve, egy adott minta sikérerőssége és nyújthatósági tulajdonságai megbecsülhetők, így a PSS modell illetve a hasonló modellek hasznosak a nemesítési stratégia kialakításában, illetve a gabonaipari minőségszabályozási feladatainak megoldásában.

A nemesítés vonatkozásában a fenti modellek alkalmazásának legfontosabb tanulsága az, hogy a nagymérvű allél-allél kölcsönhatások következtében a minőség javítását célzó nemesítési gyakorlatban egy-egy allél bevitele helyett allél-kombinációk kialakítása a kívánatos [27].

Az élelmiszeripari alkalmazások közül példaként egy érdemel itt említést. A PSS modell nem csak egyedi minták reológiai tulajdonságainak leírására alkalmas,

de az egyes komponensek alléösszetételének és a keverési receptúrának az ismeretében képes különböző búzafajták keverék lisztjeinek jellemzésére is. Mindez azért fontos, mert az iparban általánosan használt liszt-keverési technológia sarkalatos problémája az, hogy a minőségi paraméterek nem additívak. A keverék komponensek kölcsönhatása miatt inhibíciós és szinergikus hatások lépnek fel, így a komponensek minőségi paramétereinek a receptúra adataival súlyozott átlaga nem egyenlő a keverékből mért minőséggel. A PSS modell ezt a problémát képes áthidalni, sőt, mint célfüggvény az inverz probléma megoldására is alkalmas: A 'least-cost' optimalizáláshoz hasonló elven, a kívánt minőségű lisztkeverék keverési arányának megadására alkalmas [17].

A HMW illetve LMW glutenin allélek egyedi, illetve kölcsönhatásból származó inkrementumait leíró - regressziós módszerrel meghatározott - α és β együtthatók kísérleti meghatározására Oszvald és mtsai [69] dolgoztak ki módszert: inkorporációs kísérletben alaplisztként búzalisztet illetve rizslisztet alkalmazva, rizsliszt esetén az inkorporált fehérje egyedi hatása határozható meg, míg búzaliszt esetén ehhez hozzáadódik az inkorporált fehérjének az alapliszt prolaminjaival való kölcsönhatásából származó hatás is.



Líneáris modell/Liear model

$$R_{max_{LIN}} = x_u \cdot R_{max_u} + x_v \cdot R_{max_v}$$

$$R_{max_{LIN}} = x_u \cdot \left(\sum_{i=1}^3 \alpha_i \cdot (HMW)_{u,i} + \sum_{j=1}^3 \alpha_j \cdot (LMW)_{u,j} + \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 \beta_{ij} \cdot (HMW)_{u,i} \cdot (LMW)_{u,j} \right) + x_v \cdot \left(\sum_{i=1}^3 \alpha_i \cdot (HMW)_{v,i} + \sum_{j=1}^3 \alpha_j \cdot (LMW)_{v,j} + \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 \beta_{ij} \cdot (HMW)_{v,i} \cdot (LMW)_{v,j} \right) +$$

Nem-líneáris modell
Non-linear model

$$R_{max} = R_{max_{LIN}} + x_u \cdot \left(\sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 \beta_{ij} \cdot (HMW)_{u,i} \cdot (LMW)_{v,j} \right) + x_v \cdot \left(\sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 \beta_{ij} \cdot (HMW)_{v,i} \cdot (LMW)_{u,j} \right)$$

11. ábra A PSS model matematikai kifejtése egy kétkomponensű lisztkeverék sikérerősségének (R_{max}) leírására [17]
Figure 11. The mathematical description of the the nonlinear behaviour of dough strength (R_{max}) in a two component flour blend system using the PSS model [17]

6. A magyar búza minősége

A Kárpát medencében a jó klimatikus és agronómiai feltételek mellett az itt élő népek évezredek óta természetnek kiváló minőségű búzát, bizonyos történelmi korszakokban Európa tekintélyes részét látva el kenyérgabonával. A fenti környezeti körülmények mel-

lett a kiváló minőségű „acélos”, de ugyanakkor rendkívül elasztikus, magas sikértartalmú tészta alapja a spontán szelekció, majd a tudatos nemesítés által nagymértékben befolyásolt génekészlet, amely – legalább is a raktározási fehérjék vonatkozásában – számos specifikus tulajdonságot mutat.

A 80-as években megkezdett és napjainkban is folyó kutatások eredményei szerint [9], [11], [12], [13], [77], [78], [75], [56], [57], [7], [61] a régi magyar tájfajták legjobbjai, így például a Bánkúti 1201 tájfajta két, a sikérorosságot szignifikánsan növelő HMW GS allélt is tartalmaz. Ezek az Ax2*B alegységet magában foglaló *Glu1Ax* [55], [57] és a *GluBx7* alegységet túltermelő (*Glu1Ba*) allélek [59], [36]. Ezeknek az alléleknek a jelenléte egy, a régió búzáira jellemző érdekes expressziós sajátossággal párosul.

A Kárpát medence búzáiban az átlagosnál magasabb sikértartalom a szokásosnál szignifikánsan magasabb gliadintartalomnak köszönhető. A kiváló sütőipari minőség molekuláris magyarázata ezeknél a tájfajtáknál az erős és stabil sikért biztosító glutenin allélek és a jó nyújthatóságot biztosító alacsony glutenin/gliadin arány egymást kiegészítő jelenléte.

Az elmúlt évek tudatos nemesítési törekvése ezen „Hungaricum” szintű speciális génkészlet lehetőségeinek kiaknázása, a régi magyar tájfajták felhasználása a minőségjavításra törekvő nemesítési munkába. E törekvés első sikeres eredménye a pedigréjében a Bánkúti 1201-et tartalmazó Mv Karizma fajta illetve a magyar kutatók, nemesítők, forgalmazók és felhasználók összefogásával létrehozott „Pannon búza” konzorcium, amelynek célja a magyar búza hagyományos jó nemzetközi megítélésének öregbítése [10].

7. Napjaink minőség-orientált búzakutatási irányai, új kihívások

A minőséggel kapcsolatos kutató-fejlesztő, az ipar illetve a fogyasztó követelményeit egyaránt kielégítő kihívások a korábbi prioritásokat két irányban is módosították. Egyrészt alapvető fontosságúvá vált a késztermékek önköltségét csökkenteni képes folyamatok, illetve az ezek használatára alkalmas nyersanyagok, új genotípusok használata. Így kerültek előtérbe olyan minőségi követelmények, mint a megfelelő konzisztencia minél kevesebb dagasztási energiaszükséglettel történő biztosítása, vagy a fajlagosan minél magasabb vízfelvevőképesség. A másik nagy horderejű változást a minőség-fogalom alakulásában a fogyasztó azon egyre erősebben megfogalmazott igénye diktálta, hogy egészségesebb, magasabb tápértékű, de alacsonyabb kalóriatartalmú sütőipari termékeket igényel, olyan választékban, hogy a megfelelő termékeket a különféle lisztérzékenységekben szenvedő fogyasztó is megtalálja.

Ez utóbbi kívánalom a búza fehérjéinek teljesen másfajta jellemzését igénylő feladatokat ró a minőséget biztosítani, javítani szándékozó szakemberre egy olyan tevékenységi körben, ahol a növénybiológia, az élelmiszertudomány és -technológia mellett az orvostudomány képviselőire is fontos szerep vár. Napjainkban tisztázódnak a gyakran hasonló tüneteket okozó, de mechanizmusukban különböző búza okozta rendellenességek típusai [88], valamint a ki-

váltó okokat képező toxikus illetve allergén epitópot tartalmazó búzafehérjék mennyisége. Ennek kapcsán fény derül egy búzaminta toxicitásának/allergiás hatásának mértékére [58], a betegségek genetikai hátterére, előfordulásának gyakoriságára is [104]. A gyártás- és gyártmányfejlesztés teljesen új területe fejlődött ki a sikérmentes sütőipari termékek előállítására [5]. Ezzel párhuzamosan az alap- és alkalmazott kutatás szintjén intenzív kutatás folyik a speciális tulajdonságokkal bíró genotípusok és búza-analógok keresése illetve kifejlesztése vonatkozásában. A klinikai gyakorlat bizonyossága szerint a legsúlyosabb búza okozta megbetegedés, a cöliákia esetén az egyedüli megoldás a sikérmentes diéta, ezzel szemben a búza allergiában szenvedők tekintélyes része tolerálni képes bizonyos *Triticum spelta* genotípusokból készült termékeket [89], [104]. A molekuláris biológia aktív alkalmazására ezen a területen jó példa Breen és munkatársai munkája [35], ahol ennek a csökkent allergén hatásnak egy lehetséges okát sikerült felderíteni: a kevésbé allergén *spelta* vonalak az egyébként allergén expenzin fehérjének egy mutált formáját tartalmazták, amelyben az extra három aminosav jelenléte – módosítva a receptorkötő hurok konformációját – egyik oka lehet a megváltozott biológiai hatásnak.

Az új, illetve fokozott hangsúlyt kapott igények olyan korszakban kerültek napirendre, amikor maga a búzavetikum világszerte komoly változásokon ment keresztül, módosítva a gazdaságos, megfelelő hozont felmutatni tudó termelés feltételeit. Az a tény, hogy a búza világpiacán megjelenő „új szereplők”, pl. Kazahsztán, Ukrajna, Brazília olcsó, de átlagos minőségű termékei perspektivikusan az átlagor csökkentését okozzák, illetve, hogy a hagyományos exportőrök csak a minőség fokozásával, javító búzákat előállításával képesek piacukat megtartani és bevételüket szinten tartani, a minőség jelentőségét és az ezzel kapcsolatos alap- és alkalmazott kutatások fontosságát hangsúlyozzák. Ugyanakkor az új, jobb minőségű és megfelelő terméshozamú búzafajták nemesítései szembe kell nézni az abiotikus és biotikus stresszek, a változó klimatikus hatások okozta terméshozam- és minőségcsökkenés problémájával és a feldolgozóipar egyre fokozódó igényével a termény minőségének konzisztens volta iránt. Ez utóbbi követelmény, az állandó minőségi paraméterek iránti igény vezetett arra, hogy manapság a malom- illetve sütőipar szinte kizárólag csak búza- illetve lisztkeverékekből dolgozik, nem egy-egy fajta terméséből.

A másik következménynek még ennél is fontosabb hatása van a minőségre orientálódó kutató-fejlesztő munka vonatkozásában: míg valaha a pék lisztből, vízből és élesztőből készített kenyeret, addig ma egy átlagos sütődei receptúra 30-35 különféle adalékanyagot (emulgeátort, stabilizátort, különféle enzimeket) tartalmaz. Ennek következtében a búza illetve a liszt, mint alapanyag minősége egyre távolabb kerül az adott technológia és receptúra esetén tapasztalt minőségtől, a G x E x T hatásokon belül a technológiai (T) hatás dominál (5.ábra).

Amint ezt a búzakémia történetének legszélesebb körű vállalkozásaként szervezett brit kutatócsoport által közzétett jelentés megfogalmazza [66], a búza raktározási fehérjéinek optimálisan kiválasztott alléllösszetétele a kiváló sütőipari minőség szükséges, de nem elégséges feltétele. A kiváló minőség biztosításának záloga az, hogy a búzaliszt makro- és mikrokomponenseinek genetikai hátterét, a kémiai összetétel minőségi és mennyiségi vonatkozásait a lisztben, illetve ezek változásait a technológia során ne izoláltan, hanem kölcsönhatásaiban, komplex módon jellemezzük és értelmezzük. A búzalipidek és pentozánok hatása a liszt minőségére régóta ismert. Az előbbiek és a kenyérfogat viszonyát a 80-as, 90-es években intenzíven vizsgálták [33], [60], [71]. Megállapították, hogy a poláros lipidek bizonyos gliadin fehérjékkel történő specifikus kölcsönhatása a dagasztás során adja azt a membránszerű szerkezetet, amely a gázvisszatartó képességért felelős [31], [32]. A pentozánok sikérfhérjékkel való kölcsönhatásait, illetve ennek hatását a tészta jellemzőire már a 70-es években leírták [54], de csak a közelmúltban történt próbálkozás a pentozánokat, oldható fehérjéket és az őrlés során keletkezett sérült keményítő mennyiségét tartalmazó, a vízfelvevőképesség előrejelzésére alkalmas matematikai modellek kidolgozására [75].

A közeljövőben befejeződő grandiózus kutatási projekt, a teljes búza-genom nemzetközi összefogással történő felderítése megteremti a molekuláris alapokat a jövő minőség-orientált kutatásaihoz is [15], [38]. A sokféle követelmény, igény a minőség javításával kapcsolatban oly sokrétű, hogy a prioritások tisztázására speciális számítógépes adatbázisok és programok kidolgozása van folyamatban a nemesítő munkájának megkönnyítése érdekében [4]. Az elmúlt öt év sikeres interdiszciplináris erőfeszítései – ahol a funkcionális genomika és proteomika az immunológiai módszerekkel és a hagyományosabb gabonavizsgáló metodikákkal együtt alkalmazva fontos eszközként vonul be a vizsgálati arsenálba – azt mutatják, hogy a minőséggel kapcsolatos igen komplex követelmények a jövőben teljesíthetők lesznek.

8. Irodalmi hivatkozások / References

- [1] Anderson, O.D., Békés, F. (2011): Incorporation of High-molecular-weight Glutenin Subunits Into Doughs Using 2 gram Mixograph and Extensigraph. *J. Cereal Sci.* 54. p. 288-295
- [2] Anderson, O.D., Békés, F., D'Ovidio, R. (2011b): Effects of Specific Domains of High-molecular-Weight Glutenin Subunits' on Dough Properties by an in Vitro Assay. *J. Cereal. Sci.* 54. p. 280-287
- [3] Anderson, O.D., Békés, F., Gras, P.W., Kuhl, J., Tam, A. (1996): HMW Glutenins: Structure Function Relationships Step by Step. In: Proc. 6th Intern. Workshop on Gluten Proteins, Ed.: Wrigley, C.W. pp.: 195-198., RACI, Melbourne, Australia
- [4] Appels, R. (2011): The Genome Sequence-candidate Gene-trait Attributes Interface in Cereals. Proc. 1st Cereal Biotechn. Conf., Szeged, Hungary, (Abstract)
- [5] Ács, E., Kovács, Zs., Matuy, J. (1996): Bread From Corn Starch for Dietetic Purposes. II. Visual and Technological Properties. *Cereal Res. Comm.* 24. p. 451,459
- [6] Bailey, C.H. (1941) A Translation of Beccari's Lecture Concerning Grain (1728). *Cereal Try* 18. p. 555-561
- [7] Baracska, I., Balázs, G., Liu, L., Ma, W., Oszvald, M., Newberry, M., Tömösközi, S., Láng, L., Bedő, Z., Békés, F. (2011): A Retrospective Analysis of HMW and LMW Glutenin Alleles of Cultivars Bred in Martonvásár, Hungary. *Cereal Res. Comm.* 39. p. 225-236
- [8] Barro, F., Rooke, L., Békés, F., Gras, P., Tatham, A.S., Fido, R.J., Lazzeri, P., Shewry, P.R., Barcelo, P. (1997): Transformation of Wheat With HMW Subunit Genes Results in Improved Functional Properties. *Nature Biotechnol.* 15. p. 1295-1299
- [9] Bedő Z., Kárpáti M., Vida Gy., Kramarikné Kissimon J., Láng L. (1995): Good Breadmaking Quality Wheat (*Triticum aestivum* L.) Genotypes with 2+12 Subunit Composition at the Glu-D1 Locus. *Cereal Research Communications*, 23. 3. p. 283-289
- [10] Bedő, Z., Veisz O., Vida, Gy., Rakszegi, M., és Láng L. (2011): Chapter 21. Semi-intenzive Wheat - Hungarian Example. . In: *The World Wheat Book – a History of Wheat Breeding – Vol 2.* Eds.: Bonjean, A., Angus, W., és van Ginkel, M. pp.: 521-541, Lavoisier, London
- [11] Bedő, Z., Vida, Gy., Láng, L., Karsai, I. (1998): Breeding for Breadmaking Quality Using Old Hungarian Wheat Varieties. *Euphytica* 100, p. 179-182
- [12] Bedő, Z., Vida, Gy., Láng, L., Juhász, A., Karsai, I. (1999): Breeding a Wheat Variety with Different Lines for Technological Quality and HMW Glutenin Composition. *J. Genet. Breed.* 53, p. 57-62
- [13] Bedő, Z., Rakszegi M., Láng, L., Keresztényi, E., Baracska, I., Békés, F. (2005): Breeding for Breadmaking Quality Using Overexpressed HMW Glutenin Subunits in Wheat (*Triticum aestivum* L.) In: Proc. 7th International Wheat Conf., Argentina Wheat Production in Stressed Environments, Eds.: Buck, H.T., Nisi, J.E., és Salomon, N., pp. 479-485., Springer

- [14] Blechl, A.E., Le, H.Q., Békés, F., Gras, P.W., Shimoni, Y., Galili, G., Anderson, O.D. (1997): Applications of Molecular Biology in Understanding and Improving Wheat Quality., Proc.Int. Wheat Quality Conf., Manhattan, Kansas., pp. 161-172. Eds. Steele, J.L. és Chung, Gla, O.K.
- [15] Barsby, T., Risacher, T., Békés, F. és Appels, R. I. (2011): Linking the genome to phenotypes in wheat: advances in technologies and concepts. In: The World Wheat Book – a history of wheat breeding – Vol 2. Eds.: Bonjean, A., Angus, W., és van Ginkel, M. pp. 347-378., Lavoisier, London
- [16] Békés, F. (1975): Simulation of Proliferating Chemical Systems. Biosystems 7. p. 189-195
- [17] Békés, F. (2011): Studying the Protein-protein Interactions and Functional Properties of the Wheat Storage Proteins in a Gluten Free Model System Agro Food Ind. High-tech. 22
- [18] Békés, F. (2012a): New Aspects in Quality Related Wheat Research: I. Challenges and Achievements (Review) Cer. Res. Comm. 40. p. 159–184
- [19] Békés, F. (2012b): New Aspects in Quality Related Wheat Research: II: New Methodologies for Better Quality Wheat. (Review) Cer. Res. Comm. 40. p. 307-333
- [20] Békés, F., Anderson, O., Gras, P.W., Gupta, R.B., Tam, A., Wrigley, C.W., Appels, R.(1994a): The Contribution to Mixing Properties of 1D Glutenin Subunits Expressed in a Bacterial System. In: Proc. 'Improvement of Cereal Quality by Genetic Engineering', (eds R.Henry & J.Ronalds) pp. 97-104, Plenum Press, New York, USA
- [21] Békés F., Gras P.W. (1992): Demonstration of the 2-gram Mixograph as a Research Tool. Cereal Chem. 69. p. 229-230
- [22] Békés, F., Gras, P.W. (1999): In Vitro Studies on Gluten Protein Functionality. Cereal Foods World, 44. p. 580-586
- [23] Békés, F., Gras, P.W. (2000): Small-scale Dough Testing as a Breeding and Research Tool. Chem. Australia 67. p. 33-36
- [24] Békés, F., Gras, P.W. Appels, R. (2001): Small-scale Dough Testing as a Breeding and Research Tool. In: Developments in Plant Breeding. Volume 9. Wheat in a Global Environment. Proceedings of the 6th International Wheat Conference, 5-9 June 2000, Budapest, Hungary. (Bedő, Z., Láng, L. eds.) Kluwer academic Publishers, Dordrecht/ Boston/London, p 285-290
- [25] Békés, F., Gras, P.W., Gupta, R.B. (1994b): Mixing Properties as a Measure of Reversible Reduction/Oxidation of Doughs. Cereal Chem. 71, p. 44-50
- [26] Békés, F., Gras, P.W., Gupta, R.B., Hickman, D.R., Tatham, A.S. (1994c): Effects of 1Bx20 HMW Glutenin on Mixing Properties. J. Cereal Sci. 19. p. 3-7
- [27] Békés, F., Kemény, S., Morell, M. K. (2006): An Integrated Approach to Predicting End-product Quality of Wheat. Eur. J. Agron. 25. p. 155–162
- [28] Békés, F., Ma, W., Gale, K. (2002b): QTL Analysis of Wheat Quality Traits.. Acta Agronomica 50. p. 249-262
- [29] Békés, F., Southan, M.S., Tömösközi, S., Nanas, J., Gras, P.W., Varga, J., McCorquodale, J., Osborne, B.G. (2000): Comparative Studies on a New Micro Scale Laboratory Mill. Proc. 49. RACI Conference, Eds.: Panozzo, J.F., Ratcliffe, M., Wootton, M., Wrigley, C.W., pp. 483-487. RACI, Melbourne.
- [30] Békés, F., Wrigley, C.W. (2002a): Efficient testing of wheat quality at the milligram or megagram Level. In, Wheat Quality Elucidation: The Bushuk Legacy (P.K.W.Ng és C.W.Wrigley, Eds) American Association of Cereal Chemists Inc., St Paul, MN. pp. 101-112
- [31] Békés, F., Zawistowska, U., Bushuk, W. (1983a): Lipid-mediated Aggregation of Gliadin. Cereal Chem. 60. p. 379-380
- [32] Békés, F., Zawistowska, U., és Bushuk, W. (1983b): Protein-lipid Complexes in the Gliadin Fraction. Cereal Chem. 60. p. 371-378
- [33] Békés, F., Zawistowska, U., Zillman, R.R., és Bushuk, W. (1986): Relationship Between Lipid Content and Composition and LV of 26 Common Spring Wheats. Cereal Chem. 63. p. 327-331
- [34] Branlard, G., Pierre, J. Rousset, M. 1992. Selection Indices for Quality Evaluation in Wheat Breeding. Theor. Appl. Gen. 84. p. 57–64
- [35] Breen, M., Li, D., Dunn, D.S., Békés, F., Kong, X., Zhang, J., Jia, J., Wicker, T., Mago, R. Ma, W., Bellgard, M., Appels, R. (2010): Wheat Beta-expansin (EXPB11) Genes: Identification of the Expressed Gene on Chromosome 3BS Carrying a Pollen Allergen Domain. BMC Plant Biology 10. 99 1471-2229/10/99
- [36] Butow, B.J., Ma, W., Gale, K.R., Cornish, G.B., Rampling, L., Larroque, O., Morell, M.K. Békés, F. (2003): Molecular Discrimination of Bx7 Alleles Demonstrates that a Highly Expressed High Molecular Weight Glutenin Allele Has a Major Impact on Wheat Flour Dough Strength. Theor. Appl. Gen. 107. p. 1524-1532
- [37] Cavanagh, C.R., Taylor, J., Larroque, O., Coombes, N., Verbyla, A.P., Nath, Z., Kutty, I., Ramplin, L., Butow, B., Ral, J.P., Tömösközi, S., Balázs, G., Békés, F., Mann, G., Quail, K., Southan M., Morell, M. K., Newberry, M. (2010): Sponge and Dough Bread Making: Genetic and Phenotypic Relationships with Wheat Quality Traits. Theor. Appl. Gen. 121. p. 815-828
- [38] Chapman, B., Moolhuijzen, P., Ma, w., Bellgard, M., Zan, Z., Wang., S., Juhász, A., Békés, F., Appels, R. (2013): Wheat Proteogenomics: Mapping Proteins and Grain Phenotype to the Genome. Proc. 11th Internat. Gluten Workshop, Beijing, Eds.:He, Z., and Wangm D., pp. 2-6. CIMMYT, Mexico City
- [39] Cornish, G. B., Békés, F., Eagles, H. A., Payne, P. I. (2006): Prediction of Dough Properties for Bread Wheats. In: Gliadin and Glutenin. The Unique Balance of Wheat Quality. (eds C.W.Wrigley, F.Békés W.Bushuk): pp. 243-280. AACCC Press: St. Paul, MN
- [40] Cornish, G.B., Siriamornpun, S., Skylas, D., Békés, F., Wrigley, C.W., Wootton, M. (2001): HMW and LMW Glutenin Subunit and Gliadin Protein Markers in Genetic Maps. Aust. J. Agric. Res. 52. p. 1161-1171

- [41] Eagles, H. A., Hollamby, G. J., Gororo, N. N. Eastwood, R. F. (2002): Estimation and Utilisation of Glutenin Gene Effects from the Analysis of Unbalanced Data from Wheat Breeding Programs. *Aust. J. Agric. Res.* 53. p. 367–377
- [42] Fido, R., Békés, F., Gras, P.W., Tatham, A. (1997): The Effects of Added Gliadin Classes on the Mixing Properties and Extension of Dough. *J. Cereal Sci.*, 26. p. 271-277
- [43] Gánti, T. (1971): *Az élet princípiumai.* Gondolat, Budapest
- [44] Gras, P.W., Hibberd, G.E. Walker, C.E. (1990): Electronic Sensing and Interpretation of Dough Properties Using a 35-gram Mixograph. *Cereal Foods World* 35. p. 568
- [45] Gras, P.W., O'Brien, L. (1992): Application of a 2g Mixograph to Early Generation Selection for Dough Strength. *Cereal Chem.* 69. p. 254-260
- [46] Gupta, R.B., Békés, F., Wrigley, C.W. (1991): Prediction of Physical Dough Properties from Glutenin Subunit Composition in Bread Wheats: Correlation Studies. *Cereal Chem.* 68. p. 328-333
- [47] Gupta, R.B., Khan, K. McRitchie, F. (1993): Biochemical Basis of Flour Properties in Bread Wheat. I. Effects of Variation in the Quantity and Size Distribution of Polymeric Protein. *J. Cereal Sci.* 18. p. 23-41
- [48] Gupta, R.B., Paul, J.G., Cornish, G.B., Palmer, G.A., Békés, F. Rathjen, A.J. (1994): Allelic Variation in Glutenin Subunit and Gliadin Loci, Glu-1, Glu-3 and Gli-1, of Common Wheats: Its Additive and Interaction Effects on Dough Properties. *J. Cereal Sci.* 19. p. 9-19
- [49] Gupta, R.B. Shepherd, K.W. (1990): Two-step One-dimensional SDS-PAGE Analysis of LMW Subunits of Glutenin. I. Variation and Genetic Control of the Subunits in Hexaploid Wheats. *Theor. Appl. Genet.* 80. p. 65-74
- [50] Haraszi, R., Gras, P.W., Tömösközi, S., Salgó, A., Békés, F. (2004): The Application of a Micro Z-Arm Mixer to Characterize Mixing Properties and Water Absorption of Wheat Flour. *Cereal Chem.* 81. p. 555-560
- [51] He, G.Y., Rooke, L., Cannell, M., Rasco-Gaunt, S. Sparks, C., Lamacchia, C., Békés, F., Tatham, A.S., Barcelo, P., Shewry, P.R., Lazzari, P.A. (1998): Current Status of Transformation in Bread and Durum Wheats and Modifications of Gluten Quality. *Acta Agronomica* 46. p. 449-462
- [52] He, G.Y., Rooke, L., Békés, F., Gras, P.W., Tatham, A.S., Fido, Barcelo, P., Shewry, P.R., Lazzari, P.A. (1999): Transformation of Trihordium With HMW Glutenin Subunit Genes and Modification of Dough Functionality. *Molecular Breeding* 5. p. 377-386
- [53] Howitt, C.A., Tamás, L., Solomon, R., Gras, P.W., Morell, M.K., Békés, F., Appels, R. (2003): Modifying Flour to Improve Functionality. In: *Bread Making. Improving Quality.* Ed.: Cauvain, S.P., pp: 220-252. CRC Press, Boston, New York, USA
- [54] Jeleca, S.L., Hlinka, I. (1971): Water-binding Capacity of Wheat Flour Crude Pentosans and their Relation to Mixing Characteristics of Dough. *Cereal Chem.* 48. p. 211-222
- [55] Juhász A., Tamás L., Karsai I., Vida Gy., Láng L., Bedő Z. (2001): Identification, Cloning and Characterisation of a HMW-Glutenin Gene from an Old Hungarian Wheat Variety, Bánkúti 1201. *Euphytica* 119. p. 75-79
- [56] Juhász, A, Király, I, Larroque, OR., Tamás, L., Zeller, F.J., Békés, F. and Bedő Z. (2002): Importance of Old Wheat Varieties and Landraces in Storage Protein Analysis. In *Proceedings of the 52nd Australian Cereal Chemistry Conference* (C.K. Black, J.F. Panozzo, C.W. Wrigley, I.L. Batey and N. Larsen eds.), pp. 210-214
- [57] Juhász A., Gárdonyi M., Tamás L. Bedő Z. (2003a): Characterisation of the Promoter Region of Glu-1Bx7 Gene from Overexpressing Lines of an Old Hungarian Wheat Variety In: *Proceedings of the 10th International Wheat Genetic Symposia*, (NE Pogna, M. Romano, EA Pogna and G. Galterio eds.) Roma, Italy pp. 1348-1350
- [58] Juhász, A., Gell, Gy., Békés, F., Balázs, E. (2012): The Epitopes in Wheat Proteins for Defining Toxic Units Relevant to Human Health. *Funct. Integr. Genomics.* *Funct. Integr. Genomics* 12. p. 585–598.
- [59] Juhász, A., Larroque, O., Tamás, L., Hsam, S.K.L., Zeller, F., Békés, F., Bedő, Z. (2003b): Bánkúti 1201 - an old Hungarian Wheat Variety with Special Storage Protein Composition. *Theor. Appl. Genet.* 107 p. 697–704
- [60] Kárpáti, M., Békés, F., Smied, I., Lásztity, R., Mosony, A., and Órsi, F. (1990): Investigation of the Relationships Between Wheat Lipids and Baking Properties. *Acta Alim.* 19. p. 237-260
- [61] Kovács, A., Rakszegi, M., Láng, L., Ma, W. Békés, F., Bedő, Z. (2013): Application of a Rapid Electrophoresis Technique Analysing the Glutenin Subunit Composition of Wheat Genotypes. *Cereal Res. Comm.* DOI: 10.1556/CRC.2013.0010
- [62] Lawrence, G.J., MacRitchie, F., Wrigley, C.W. (1988): Dough Baking and Baking Quality of Wheat Lines Different in Glutenin Subunits Controlled by the *Glu-A1*, *Glu-B1* and *Glu-D1* loci. *J. Cereal Sci.* 21. p. 109-112
- [63] Lee, Y.K., Békés, F., Gras, P.W, Appels, R. Morell, M., (1999): The Low Molecular Weight Glutenin Subunit Proteins of Primitive Wheats. IV. Functional Properties of Products from Individual Genes. *Theor. Appl. Genet.* 98. p. 149-155
- [64] Metakovsky, E.V., Novoselskaya, A.Y., Kopus, M.M., Sobko, T.A., Sozinov, A.A. (1994): Blocks of Gliadin Components in Winter Wheat Detected by One-dimensional Polyacrylamide Gel Electrophoresis. *Theor. Appl. Genet.* 67. p. 559-568
- [65] Morgounov, A.I., Belan, I., Zelenskiy, Y., Roseeva, L. Tömösközi, S., Békés, F., Abugalieva, A., Cakmak, I., Vargas, M. Crossa, J. (2013): Historical Changes in Grain Yield and Quality of Spring Wheat Varieties Cultivated in Siberia from 1900 to 2010. *Can. J. Plant Sci.* 93. p. 425-433
- [66] Millar, S., Snape J., Ward J., Shewry P.R.,

Belton P., Boniface K. Summers R. (2008): Investigating Wheat Functionality through Breeding and end Use (FQS 23) HGCA, Project Report No. 429. 1-58. HGCA, London

[67] Orth, R.A. Bushuk, W., (1972):. A Comparative Study of the Proteins of Wheats of Diverse Baking Properties. *Cereal Chem.* 49. p. 268-275

[68] Osborne, T. B. 1907. *The Proteins of the Wheat-kernel.* Publication 84. Carnegie Institution, Washington, DC.

[69] Oszvald, M., Balázs, G., Tömösközi, S., Békés, F., Tamás, L. (2011): Comparative Study of the Effect of Incorporated Individual Wheat Storage Proteins on Mixing Properties of Rice and Wheat Dough. *J. Agric. Food Chem.* 59. p. 9664–9672

[70] Oszvald, M., Balázs, G., Pólya, S. Tömösközi, S., Appels, R., Békés, F., Tamás, L. (2013): Wheat Storage Proteins in Transgenic Rice Endosperm. *J. Agric. Food Chem.*, 61. p. 7606–7614

[71] Panozzo J.F., O'Brien L., MacRitchie F. and Békés F. (1993): Baking Quality of Australian Wheat Cultivars Varying in their Free Lipid Composition. *J. Cereal Sci.* 11. p. 51-57

[72] Payne, P. I. (1987): Genetics of Wheat Storage Proteins and the Effect of Allelic Variation on Bread-making Quality. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 38. p. 141-153

[73] Payne, P. I., Nightingale, M. A., Krattiger, A. F. Holt, L. M. (1987): The Relationships Between HMW Glutenin Subunit Composition and the Bread-making Quality of British-grown Wheat-Varieties. *J. Sci. Food Agric.* 40. p. 51–65

[74] Quail, K., Yun, S., Partridge, S., Békés, F. (2000): Noodle-quality Studies on a New Small-scale Noodle-making Equipment. *Proc. 6th International Wheat Conference, Budapest*

[75] Rakszegi, M., Balázs, G., Békés, F., Harasztos, A., Kovács, A., Láng, L., Bedő, Z., Tömösközi, S. (2014): The Contribution of Soluble Proteins and Arabinoxylans to Water Absorption of Wheat Flour. *Cereal Res. Comm.* (in press)

[76] Rakszegi, M., Békés, F., Láng, L., Tamás, L., Shewry, P. R. Bedő, Z. (2005): Technological Quality of Transgenic Wheat Expressing an Increased Amount of a HMW Glutenin Subunit. *J. Cereal Sci.* 42. p. 15–23

[77] Rakszegi, M., Kárpáti, M., Lásztity, R., Bedő, Z. (1999): Study of the LMW Glutenin Subunits of Some Old Hungarian Wheat Cultivars. *Cereal Res. Commun.* 27. p. 293-299

[78] Rakszegi, M., Scholz, É., Kárpáti, M., Ganzler, K., Lásztity, R. Bedő, Z. (2000): Study of the LMW Glutenin Composition of Some Old Hungarian Wheat Cultivars Using Capillary Electrophoresis. *Cereal Res. Commun.* 28, p. 417-424

[79] Rooke, L., Békés, F., Fido, R., Barro, F., Gras, P., Tatham, A.S., Barcelo, P., Lazzeri, P., Shewry, P.R. (1999a): Over-expression of a Gluten Protein in Transgenic Wheat Results in Greatly Increased Dough Strength. *J. Cereal Sci.* 30. p. 115-120

[80] Rooke, L., Barro, F., Tatham, A.S., Fido, R.,

Steele, S., Békés, F., Gras, P.W., Martin, A., Lazzeri, P.A., Shewry, P.R., Barcelo, P. (1999b): Altered Functional Properties of Tritordium by Transformation with HMW Glutenin Subunit Genes. *Theor. Appl. Gen.*, 99. p. 851-858

[81] Rooke, L., Steele, S.H., Barcelo, P., Shewry, P.R., Lazzeri, P.A. (2003): Transgene Inheritance, Segregation and Expression in Bread Wheat. *Euphytica* 129. p. 301–309

[82] Rath, C.R., Gras, P.W., Zhonglin, Z., Appels, R., Békés, F., Wrigley, C.W. (1995): A Prototype Extension Tester for Two-gram Dough Samples. *Proc. 44. Annual RACI Conference, Ballarat, Eds.: Panozzo, J.F. Downie, P.G.*, pp.: 122-126, RACI, Melbourne

[83] Sissons, M.J., Békés, F., Skerritt, J.H. (1997): Isolation and Functionality Testing of LMW Glutenin Subunits. *Cereal Chem.* 75. p. 30-36

[84] Shewry, P. R., D'Ovidio, R., Lafiandra, D., Jenkins, J. A., Mills, Békés, F. (2006a): Wheat Grain Proteins. In *Wheat Chemistry and Technology*, Eds.: Khan, K., Shewry, P. R., pp 223-298., AACC Press: St. Paul, MN

[85] Shewry, P.R., Lafiandra, D., Tamás, L., Békés, F. (2006c): Chapter 12 Genetic Manipulation of Gluten Structure and Function. In: *Gliadin and Glutenin. The Unique Balance of Wheat Quality.*, Eds.: Wrigley, C.W., Békés, F., Bushuk, W., pp. 363-386. AACCI Press, St Paul, Min., USA

[86] Shewry, P. R., Powers, S., Field, J.M., Fido, R.J., Jones, H.D., Arnold, G.M., West, J., Paul A. Lazzeri, P.A., Barcelo, P., Barro, F., Tatham, A.S., Békés, F., Butow, B. Darlington, H. (2006b): Comparative Field Performance Over 3 Years and Two Sites of Transgenic Wheat Lines Expressing HMW Subunit Transgenes. *Theor. Appl. Genet.* 113. p. 128–136

[87] Shewry, P.R., Tatham, A.S., Fido, R.J., He, G.Y., Rooke, L., Barro, F., Lamacchia, C., DiFonzo, N., Békés, F., Barcelo, P., Lazzeri, P.A. (2000): Exploring and Manipulating the Structures and Functional Properties of Wheat Seed Proteins. In: *Durum Wheat Improvement in the Mediterranean Region: New Challenges.* *Option Mediterraneennes.* 40. p. 469-475

[88] Sollid, L.M., Qiao, S.W., Anderson, R.P., Gianfrani, C., Koning, F. (2012): Nomenclature and Listing of Celiac Disease Relevant Gluten T-cell Epitopes Restricted by HLA-DQ Molecules. *Immunogenetics* 64. p. 455-460

[89] Suter, D.A.I. és, Békés, F. (2012): Wheat Immunoreactivity. Australian Patent AU2011000468 <http://v3.espacenet.com/publicationDetails/biblio?C=C=HU&NR=AU2011000468>

[90] Tamás, L., Békés, F., Greenfield, J., Tatham, A., Gras, P., Shewry, P., Appels, R. (1997): Heterologous Expression and Mixing Studies on Genetically Modified C- Hordeins. *J. Cereal Sci.*, 27. p. 15-22

[91] Tamás, L., Gras, P. W., Solomon, R. G., Morell, M. K., Appels, R., Békés, F. (2002): Chain Extension and Termination as a Function of Cysteine Content and the Length of the Central Repetitive Domain in Storage Proteins. *J. Cereal Sci.* 36. p. 313-325

- [92] Tamás, L., Shewry, P.R. (2006): Heterologous Expression and Protein Engineering of Wheat Gluten Proteins. *J. Cereal Sci.* 37. p. 255-265
- [93] Tosi, P., D'Ovidio, R., Napier, J.A., Békés, F., Shewry, P.R. (2004): Expression of Epitope-tagged LMW Glutenin Subunits in the Starchy Endosperm of Transgenic Wheat and their Incorporation into Glutenin Polymers. *Theor. Appl. Genet.* 108. p. 468-476
- [94] Tosi, P., Masci, S., Giovangrossi, A., D'Ovidio, R., Békés, F., Larroque, O., Napier, J., Shewry, P.R. (2005): Modification of the Low Molecular Weight (LMW): Glutenin Composition of Transgenic Durum Wheat: Effects on Glutenin Polymer Size and Gluten Functionality. *Mol. Breeding* 16. p. 113-126
- [95] Tömösközi, S., Békés, F., Haraszi, R., Gras, P.W., Varga, J., Salgó, A. (2002): Application of Micro Z-arm Mixer in Wheat Research – Effects of Protein Addition on Mixing Properties of Wheat Dough. *Periodica Polytechnica* 46. p. 11-28
- [96] Tömösközi, S., Szendi, Sz., Bagdi, A., Harasztos, A., Balázs, G., Appels, R., Békés, F. (2012): New Possibilities in Micro-scale Wheat Quality Characterisation: Micro-gluten Determination and Starch Isolation Proc. 11th Internat. Gluten Workshop, Beijing, Eds.: He, Z., Wang, D., pp. 123-126. CIMMYT, Mexico City
- [97] Tömösközi, S., Varga, J., Gras, C.W., Rath, C., Salgó, A., Nanasí, J., Fodor D., and, Békés, F. (2001): Scale Down Possibilities in Development of Dough Testing Methods. In: *Wheat Gluten*, Eds.: Shewry, P.R., Tatham, A.S., pp. 321-325, Royal Soc. Chem., Cambridge, UK
- [98] Uthayakumaran, S., Gras, P. W., Stoddard, F. L., Békés, F. (1999): Effect of Varying Protein Content and Glutenin-to-gliadin Ratio on the Functional Properties of Wheat Dough. *Cereal Chem.* 76. p. 389-394
- [99] Uthayakumaran, S., Gras, P.W., Stoddard, F.L., F. Békés (2000a): Optimising Extension and Baking

- Conditions to Study the Effects of Glutenin Composition on the Functional Properties of Wheat Dough. *Cereal Chem.* 77. p. 731-736
- [100] Uthayakumaran, S., Newberry, M., Keentok, M., Stoddard, F. L., Békés, F. (2000c): Basic Rheology of Bread Dough with Modified Protein Content and Glutenin-to-gliadin Ratio. *Cereal Chem.* 77. p. 744-749
- [101] Uthayakumaran, S., Stoddard, F.L., Gras, P.W., Békés, F. (2000b): Effects of Incorporated Glutenins on the Functional Properties of Wheat Dough. *Cereal Chem.* 77. p. 737-743
- [102] Uthayakumaran, S., Tömösközi, S., Tatham, A. S., Savage, A. W. J., Gianibelli, M. C., Stoddard, F. L., Békés, F. (2002): Effects of Gliadin Fractions on Functional Properties of Wheat Dough Depending on Molecular Size and Hydrophobicity. *Cereal Chem.* 78. p. 138-141
- [103] Vida Gy, Bedő Z, Láng L, Juhász A. (1998): Analysis of the Quality Traits of a Bánkúti 1201 Population. *Cereal Research Communications* 26. p. 313-320
- [104] Vu, N.T., Chin, J., Pasco, J.A., Kovács, A., Wing, L.W., Békés, F., Suter, D.A.I. (2014): The Prevalence of Wheat and Spelt Sensitivity in a Randomly Selected Australian Population. *Cereal Res. Comm.* (In press)
- [105] Wrigley, C.W., Békés, F., Bushuk, W. (2006): Chapter 1. Gluten: A Balance of Gliadin and Glutenin. In: *Gliadin and Glutenin. The Unique Balance of Wheat Quality.*, Eds.: Wrigley, C.W., Békés, F., Bushuk, W., pp. 3-33. AACC Press, St Paul, Min., USA
- [106] Wrigley, C.W., Tömösközi, S., Békés, F. (2011): Hungarian-Australian Collaborations in Flour Milling and Test Milling over 120 Years. *Cereal Research Communications* 39. p. 216-225



A kép illusztráció / The picture is illustration

Az európai élelmiszerpiacra fejlesszen közvetlen európai támogatással!

**Fenntartható
élelmezés-biztonság**

**Tudományok által
támogatott, innovatív,
élelmezési-célú
kutatás-fejlesztési
projektek**

**Inkluzív
biológiai-alapú
gazdaság**

HORIZON 2020 – új perspektívák!

- A magyar EU-s pályázati rendszer mellett közvetlenül Brüsszelnél is lehet pályázni
- Az innovációs pályázatok támogatási intenzitása 70 %-ról indul, és elérheti a 100 %-ot
- Bármekkora cég pályázhat, az ország bármely részéről be lehet nyújtani pályázatot

Miért indokolt a tanácsadói segítség?

1. A vállalkozás projektjéhez leginkább illő pályázat megtalálása a legfontosabb feladat
2. Jól kidolgozott projektek, piaci használhatósággal
3. A projektek összeállításában való jártasság

Fő támogatási területek:

- Fenntartható élelmezésbiztonság (élelmiszer előállító rendszerek, biztonságos élelmiszer, egészséges élelmezés, fenntartható fogyasztás)
- Innovatív, fenntartható és inkluzív biológia-alapú gazdaság (fenntartható mező- és erdőgazdálkodás, Fenntartható és versenyképes biológiai-alapú iparágak)

**Keret:
152,5 millió euró!!!**

Készüljön fel!

**Beadás: ütemezett
benyújtási határidők
2015 februárjától!!!**

Kérje a tanácsadó segítségét!

A Green Carpathia jelentős gyakorlati tapasztalattal és magas szintű képesítésekkel rendelkező kollégái professzionális támogatást és kivitelezést biztosítanak az Ön projektjéhez! Megelégedett ügyfeleink számos területről (autóipar, élelmiszeripar, vegyipar, állami és önkormányzati szektor) kerültek ki.

Referenciáinkról és a Horizon 2020 pályázatokról tájékozódjon honlapunkon:

www.greencarpathia.hu