

ÉLELMISZERVIZSGÁLATI

K Ö Z L E M É N Y E K

JOURNAL OF FOOD INVESTIGATION

T U D O M Á N Y - É L E T - M I N Ő S É G - B I Z T O N S Á G

LXIII. ÉVFOLYAM 1. SZÁM
VOL. 63, 2017 NO. 1

SCIENCE – LIFE – QUALITY – SAFETY

2017. MÁRCIUS 31.
31. MARCH 2017

Szteroid- származékok LC-MS/MS módszerű analízise

Analysis of steroid derivatives
by LC-MS/MS methods

Az analitikai standard oldatok koncentráció-bizonytalanságának becslése

A chiamag mint új élelmiszer

Érzékszervi bírálók teljesítményértékelési módszereinek felülvizsgálata

Természettudományos oktatás élelmiszer-vizsgálati kísérletek segítségével

Könyvajánló

Estimation of uncertainty of analytical standard solutions • Chia seeds as a new food • Revision of the performance evaluation methods of sensory panelists • Teaching of natural sciences with the help of food investigation experiments • Book review



www.eviko.hu

TARTALOM – CONTENTS

	Szteroidszármazékok LC-MS/MS módszerű analízise: szelektív minta-előkészítési eljárások kevert módú szilárd fázisú extrakció és pH-kontroll alkalmazásával (Tölgyesi Ádám, Virender K. Sharma) <i>Analysis of steroid derivatives by LC-MS/MS methods: selective sample preparation procedures by using mixed-mode solid phase extraction and pH control (Tölgyesi Ádám, Virender K. Sharma)</i>	1376
	Az analitikai standard oldatok pontossága és a névleges koncentrációjuk bizonytalansága (Ambrus Árpád, Kamirán Áron Hamow, Kötelesné Suszter Gabriella, Németh Anikó, Solymosné Majzik Etelka) <i>Accuracy of analytical standard solutions and the uncertainty in their nominal concentrations (Árpád Ambrus, Kamirán Áron Hamow, Gabriella Kötelesné Suszter, Anikó Németh, Etelka Solymosné Majzik)</i>	1398
	A chia mag, mint új élelmiszer (Kemenczei Ágnes, Maczó Anita, Kiss Anna) <i>Chia seeds as a new food (Ágnes Kemenczei, Anita Maczó, Anna Kiss)</i>	1422
	Leíró vizsgálatot végző érzékszervi bírálók teljesítményértékelési módszereinek felülvizsgálata (Sipos László, Ladányi Márta, Kókai Zoltán, Gere Attila) <i>Revision of the performance evaluation methods of sensory panelists performing descriptive analysis (László Sipos, Márta Ladányi, Zoltán Kókai, Attila Gere)</i>	1434
	Természettudományos oktatás az iskolában élelmiszer-vizsgálati kísérletek segítségével (Tiszáné Kósa Eszter Imola, Szabó S. András, Szabó Gergely Levente, Izsák Margit, Bozi János) <i>Teaching of natural sciences in schools with the help of food investigation experiments (Eszter Imola Tisza-Kosa, Andras S. Szabo, Gergely Levente Szabo, Margit Izsak, Janos Bozi)</i>	1452
	Könyvajánló <i>Book Review</i>	1466
	Nemzeti szabványosítási hírek (Kurucz Csilla) <i>Review of national standardization (Csilla Kurucz)</i>	1470
	Hazai körkép <i>Local panorama</i>	1474
	Kitekintő <i>Outlook</i>	1482

HU ISSN 0422-9576

Tájékoztatjuk kedves olvasóinkat, hogy a cikkekben szereplő táblázatokban és ábrákban a tizedes-értékeket ponttal választjuk el az angolszász helyesírás szerint.
We inform our dear readers that a decimal point is designated for the decimal mark (in the tables and figures) in the articles, according to the Anglo-Saxon convention.

Címlapfotó / Cover photo: Shutterstock



Kedves Olvasóink!

Sokat töprengek azon, hogy az ember életkorának előre haladtával miért tűnik a rendelkezésre álló idő napról-napra kevesebbnek. Azt gondolom, hogy az idő az emberi várakozással fordított arányban múlik: a várva-várt események késlekedni látszanak, majd a megvalósulás néhány örömteli pillanata fénysebességgel

tűnik tova a világ karneváli forgatagában. A március mégis elérkezett – újra: „A tavasz rózsás kebelét kitarva, Száll alá langyos levegőn mezőnkre. Balzsamos fűrtjén Zephyrek repesnek, S illatot isznak.”¹

Nos, a lírai gondolatok után lássuk, mit tartogat Olvasóink számára a megújult ÉVIK 2017. évi 1. száma!

Újabb időszakos rovatot jelentkezünk: két szakkönyvet mutatunk be. Az egyiket **Ambrus Árpád** és **Denis Hamilton** (A növényvédőszer-maradékok értékelése élelmiszerbiztonsági szempontból) a másikat **Csapó János** és munkatársai (Élelmiszer-hamisítás és kimutatása) jegyzik.

Vezető anyagunk az évtizedek óta a szakmai és laikus közönség figyelmének középpontjában álló egyik vegyületcsoport, az állatgyógyászati célokat szolgáló szteroidok vizsgálati módszereiről szóló dolgozat **Tölgyesi Ádám** és **Virender K. Sharma** tollából. A szteroid szerkezetű készítményeket a világ különböző területein hozamfokozó céllal használják. Élelmiszer-biztonsági hatásuk bizonyítottan aggályos, ezért alkalmazásukat az EU területén tiltják. A szerzők e vegyületek műszeres analitikai vizsgálati módszereit hasonlítják össze.

Fontosságukat és aggályosságukat tekintve a peszticidek maradékai is legalább annyira fontosak, mint az állatgyógyszerek. **Ambrus Árpád** és munkatársai kéziratukban a peszticid analitikához használatos referenciaoldatok – munkaoldatok, analitikai kalibráló oldatok – által hordozott mérési bizonytalanság kérdéseivel foglalkoznak. Elgondolkodtató, hogy a „pontos” laboratóriumi üvegeszközök és analitikai mérlegek használata során milyen bemérési hibákkal, ismételtetőségi korlátokkal kell a vizsgálatot végző szakembernek szembesülnie.

A globalizáció nemcsak a hírek, pénzügyek és divatok területén érezteti hatását, hanem az élelmiszerek és étkezési szokások, földrészek közötti összemosódását is eredményezi. Így került az EU Bizottsága elé egy, Dél-Amerikából származó növény magja, a chia (Aztékszálya – *Salvia hispanica* L.) élelmiszeripari felhasználása iránti kérelem is. **Kemenczei Ágnes** és munkatársai a chia mag új élelmiszerként történő felhasználhatóságáról írnak.

Sipos László és munkatársai újabb „műszeres” analitikai kéziratot jelentkeznek. Dolgozatukban az érzékszervi vizsgálatok detektorait, az érzékszerveket működtető analitikus, azaz az érzékszervi bírálatot végző egyének analitikai teljesítmény-jellemzői felülvizsgálatai módszereiről írnak. Itt említtem meg, hogy tudományos folyóiratunk eddigi cikkei között számos olyan írást találhatunk, amelyek az érzékszervi bírálati módszerek tekintélyét – jogosan – a műszeres analitikai módszerek színvonalára emeli.

Szeretném felhívni tisztelt Olvasóink figyelmét a www.eviko.hu honlap „Letölthető dokumentumok” feliratú részére, amely az ÉVIK eddig megjelent, letölthető, nagy terjedelmű táblázataira, jegyzékeire mutat. Honlapunknak ebben a rovatában olvashatják el a „Könyvajánló” időszakos rovatunkhoz tartozó könyvek tartalomjegyzékeit is.

Bízom benne, hogy tavaszi számunkban ki-ki talál a maga számára érdekes anyagokat. Olvasóinknak kellemes ünnepeket, áldott Húsvétot kívánok:

Dr. Szigeti Tamás János
főszerkesztő¹ Berzsenyi Dániel: A tavasz

Dear Readers,

I wonder a lot why, with advancing age, it seems that the daily time available to us is getting less and less. I think that the speed with which time passes is inversely proportional to the extent of human expectations: eagerly awaited events seem to delay, and then the few blissful moments of fulfillment slip away with the speed of light into the carnival of the world. However, March has finally arrived – again: “Opening its rosy bosom, Spring descends to our meadow on tepid air. Zephyrs float on its balmy curls, And drink perfume.”¹

Well, after these lyrical thoughts, what’s in store for our Readers in Issue no. 1 of 2017 of the renewed ÉVIK!

Our periodic column is here again: two professional books are presented. One of them is edited by Árpád **Ambrus** and Denis **Hamilton** (Food Safety Assessment of Pesticide Residues), while the other one is authored by János **Csapó** et al. (Food adulteration and its detection).

Our lead material is a paper from the pen of Ádám **Tölgyesi** and Virender K. **Sharma** about the analytical methods of steroids used for veterinary purposes, a group of compounds that has been in the focus of the attention of both professionals and the general public for decades. Steroidal preparations are used as yield enhancers all over the world. Their food safety effects have been proved to be of concern, therefore, their application in the EU is prohibited. Instrumental analysis methods of these compounds are compared by the authors.

In terms of their importance and the concerns they raise, pesticide residues do not fall far behind veterinary drugs. The manuscript of Árpád **Ambrus** et al. discusses the issue of the uncertainty carried by reference solutions used in pesticide analysis (working solutions, analytical calibration solutions). Weighing errors and repeatability limitations that experts performing the analyses must face when using “accurate” laboratory glassware and analytical balances give us food for thought.

Globalization makes its presence felt not only in the news, in finance and fashion, but it also results in a converging of foods and eating habits of the continents. Thus, the application for food industry use of the seed of a plant native to South America, the chia (*Salvia hispanica* L.) ended up in front of the EU Commission. Ágnes **Kemenczei** et al. write about the possible use of chia seed as a novel food.

László **Sipos** et al. present another manuscript on “instrumental” analysis. In their paper, they write about the revision methods of the analytical performance characteristics of the analyst operating the detectors of organoleptic tests, i.e., the individuals performing sensory evaluations. I would like to point out here that many papers can be found among the previous articles of our scientific journal that raise the prestige of sensory evaluation methods to that of instrumental analysis methods, and rightly so.

I would also like to draw the attention of our esteemed Readers to the Downloadable documents” section of the www.eviko.hu website, pointing to the large tables and lists of the previous articles of ÉVIK that can be downloaded. The tables of contents of the books in our periodic column “Book review” can be found in the same column of our website as well.

I trust that each and every one of you will find interesting articles in our spring issue. Wishing you happy holidays and a blessed Easter:

Dr. Tamás János Szigeti
Editor-in-chief¹ Dániel Berzsenyi: The Spring



A kép illusztráció / Picture is for illustration only
Fotó/Photo: Tolokán Adrienn

Tölgyesi Ádám¹, Virender K. Sharma²

Érkezett: 2016. május – Elfogadva: 2016. szeptember

Szteroidszármazékok LC-MS/MS módszerű analízise: szelektív minta-előkészítési eljárások kevert módú szilárd fázisú extrakció és pH-kontroll alkalmazásával

Kulcsszavak:

LC-MS/MS, szilárd fázisú extrakció, kevert módú ioncserélők, pH, szteroidok

1. Összefoglalás

Az állatgyógyászati szerek maradékainak és a tiltott hozamfokozóknak a vizsgálata az állati eredetű élelmiszerekben az élelmiszer-vizsgálatok egyik legnagyobb és fontosabb területe. A hatékony vizsgálatok feltétele olyan precíz módszerek kidolgozása, amelyek kielégítik a modern analitika szelektivitásra, alacsony kimutatási határra és pontosságra vonatkozó követelményeit. A folyadékkromatográfiás hármas kvadrupol rendszerű tandem tömegspektrometriás (LC-MS/MS) módszerek nagyfokú érzékenysége és szelektivitása lehetőséget biztosít a szerves célvegyületek nyomnyi kimutatására összetett minták esetén is. Az LC-MS/MS módszerek megbízhatósága ugyanakkor nagymértékben függ az analízist megelőző minta-előkészítéstől, amelynek lényege a célvegyületekkel együtt eluálódó mátrixalkotók koncentrációjának csökkentése, ezáltal a mátrixhatás minimalizálása a készülék ionforrásában. Gyakran alkalmaznak a minta-előkészítések során kis hatékonyságú folyadékkromatográfiás tisztítást, az ún. szilárd fázisú extrakciót (Solid Phase Extraction -SPE). Az eluens kémhatása a folyadékkromatográfiában az egyik legfontosabb paraméter, így a pH megfelelő megválasztása az extrakció során döntően befolyásolhatja a minta-előkészítést és ez által az analízis pontosságát. Különösen helytálló ez a megállapítás akkor, amikor proton-funkciós mátrixvegyületeket kell eltávolítani a vizsgálati mintából. Közleményünk célja olyan kevert módú SPE minta-előkészítések bemutatása, amelyek jól demonstrálják a pH-kontroll szükségét az extrakció során. A példák között neutrális és bázikus jellegű célvegyületek meghatározása is szerepel kevert módú erős ioncserélő SPE oszlopok alkalmazásával.

2. Előszó

Dr. Fekete Jenő professzor úr elválasztástechnikai előadásait mindig nagy érdeklődéssel hallgattam a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetemen. Tanár úrral a közös kutató munkát az Európai Unió Átmeneti Támogatási Projekt keretén belül kezdtük meg 2008-ban. Öt év alatt 11 nemzetközi

folyóiratban közölt publikációt készítettünk közösen, amikben a minta-előkészítés és a pH megválasztás fontosságát hangsúlyoztuk az egyes kidolgozott módszerekben. Tanár úr már az egyetemi előadásai során is többször kiemelte, hogy a pH megfelelő beállítása a folyadékkromatográfiás elválasztás és a minta-előkészítés kulcselme. Jelen közleménnyel Dr. Fekete Jenő professzor úrra szeretnék emlékezni.

¹ Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal, Élelmiszer- és Takarmánybiztonsági Igazgatóság, Élelmiszer Toxikológiai Nemzeti Referencia Laboratórium

² Department of Environmental and Occupational Health, School of Public Health, Texas A&M University

3. Bevezetés

3.1. Monitoring vizsgálatok

A biztonságos élelmiszerhez való jogot olyan – az alaptörvényében rögzített – alapjognak tekintjük, amely minden ember veleszületett és tőle elidegeníthetetlen emberi joga [1]. Az Európai Unió (EU) és így Magyarország közös céljai közé tartozik ennek az alapjognak minél szélesebb körű érvényesítése, ezért nagy hangsúlyt fektetnek az élelmiszervizsgálatok folyamatos végzésére és az ehhez szükséges analitikai módszerek folyamatos fejlesztésére.

Hazánkban, ahol a nemzeti össztermék előállításában a mezőgazdasági termelésnek kiemelt szerepe van, az agrártermékek ellenőrzése az Unión belüli szabad verseny miatt is fokozott figyelmet érdemel. Magyarországon az élelmiszer-toxicológiai megfigyelő vizsgálatokat és ellenőrzéseket (monitoring vizsgálatokat), azok menetét és az adott évi monitoring terv elkészítésének folyamatát a 10/2002 (I.23.) FVM rendelet írja elő és határozza meg [2]. A vizsgálatok az állatgyógyászati szerek maradékainak jelenlétére terjednek ki állatokban, azok ivóvizében és minden olyan mátrixban, amely az állatok tenyésztésével, tartásával kapcsolatosak [2]. A monitoring vizsgálatok célja a tiltott szerek jogellenes alkalmazásának felügyelete, illetve az engedélyezett szerek szakszerűtlen alkalmazásának felderítése. A minta szám a vágási számmal évről-évre együtt változik, s az Élelmiszer Toxikológiai Nemzet Referencia Laboratórium évente több ezer mintát vizsgál különböző maradékanyagok mennyiségének ellenőrzése céljából. A kortikoszteroid szermaradékok és a stanazolol metabolitok vizsgálata az élelmiszertermelő állatok vizeletében és az állati eredetű élelmiszerekben 2008 óta az élelmiszerellenőrző hatóság egyik fő feladata.

A felügyeleti tevékenység hatékonyságának feltétele a gyors, pontos és precíz analitikai módszerek alkalmazása, ami megköveteli a modern analitikai technika alkalmazását. Az Élelmiszer Toxikológiai Nemzet Referencia Laboratórium 5. témacsoportjában az állatgyógyászati szerek maradékainak megerősítő (konfirmációs) vizsgálatai nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás (HPLC) módszerrel folynak. A mátrixok összetettsége és az alacsony koncentrációk meghatározásának igénye miatt a hagyományos UV vagy diódasoros (Diode Array Detector - DAD) detektálással elérhető érzékenység és szelektivitás nem minden esetben kielégítő, a fluoreszcenciás detektálás (Fluorescens Detektor - FLD) pedig nem minden molekula vizsgálata céljára alkalmas. A mai, korszerű folyadékkromatográfiás (LC) meghatározások kapcsolatos technikák alkalmazásával érik el a kellő szelektivitást és a szükséges alacsonyabb kimutatási határt (LOD) [3]. A kapcsolt technikák közül a folyadékkromatográfiás hármaskvadropul rendszerű tandem tömegspektrometriás (LC-MS/MS) elválasztás az egyik legjobb minőségi és mennyiségi eredményt biztosító analitikai technika. Megjegyezzük azonban, hogy az LC-MS/MS technikán alapuló módszerek alkalmazásával is csak kellően gondos minta-előkészítés után tudunk megfelelő analitikai teljesítmény-jellemzőkkel rendelkező koncentráció értéket szolgáltatni.

3.2. Minta-előkészítés, szilárd fázisú extrakció

Az LC-MS/MS-mérések során a minta-előkészítés célja a célvegyületekkel együtt eluálódó mátrixalkotók számának és koncentrációjának csökkentése, ezáltal a mátrixhatás redukálása. Az együtt eluálódó mátrixkomponensek ugyanis a célvegyületek ionizációját befolyásolják az ionforrásban. Ideális esetben a mátrixalkotó nem hat a célkomponens ionizációjára. A gyakorlatban ugyanakkor rendszeres az ún. ionel-

nyomás, amikor is a koeluálódó mátrixalkotók csökkentik a célkomponens ionizációját az ionforrásban. Olyan jelenség is előfordulhat, hogy a mátrixvegyületek az analit ionizációját nem elnyomják, hanem javítják az ionforrásban, ilyenkor ionerősítésről beszélünk [3]. A célkomponensnek az ionforrásban történő ionizációját befolyásoló hatásokat nevezzük mátrixhatásnak az LC-MS/MS technikánál. A minta-előkészítés további célja lehet a célkomponensek dúsítása, amikor az extrakciós lépések során koncentrálnak a célkomponenseket. Fontos hangsúlyozni, hogy a minta dúsításával a vizsgálati mintában a mátrixvegyületek koncentrációját is növeljük, ami magasabb mátrixhatást eredményezhet.

A minta-előkészítés két fő részből tevődik össze: a minta extrakciója és az extraktum tisztítása (clean-up). A minta tisztítása elkerülhető lépés, ha a készülék érzékenysége vagy a célvegyület magas koncentrációja lehetővé teszi az extraktum további hígítását („dilute and shoot” módszerek). Abban az esetben viszont, mikor a minta dúsítása szükséges, akkor a tisztítási lépéseknek fontos szerepük van.

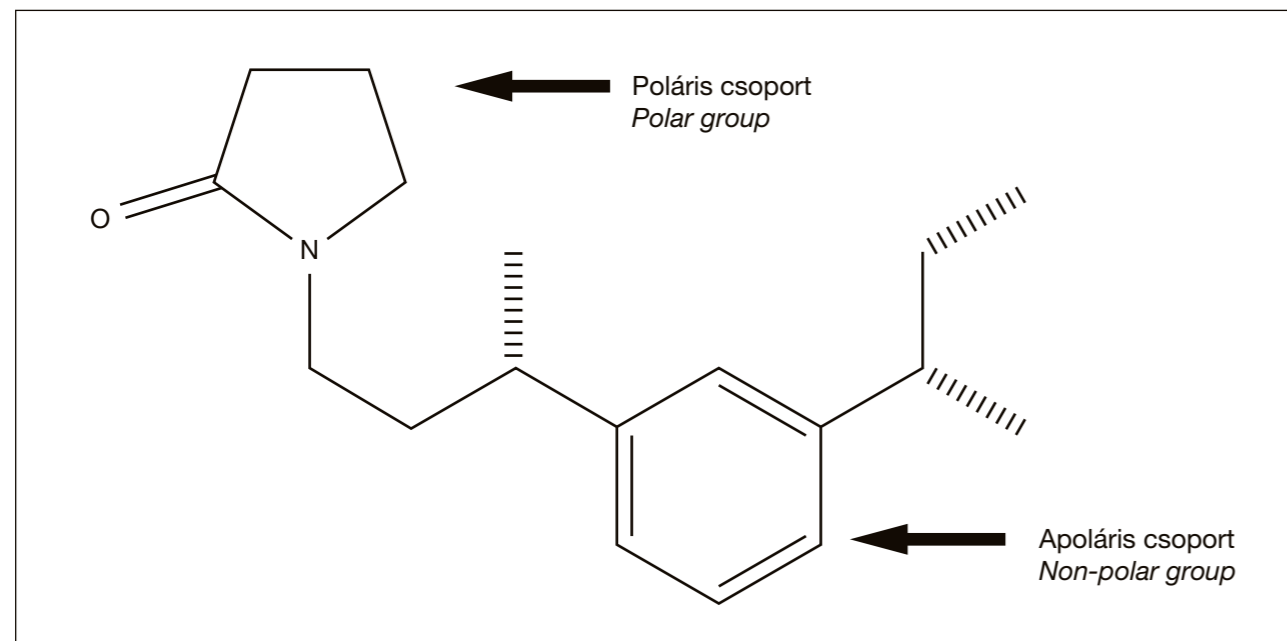
Az extraktumok tisztítására és dúsítására a leggyakrabban szilárd fázisú extrakciót (SPE) szokás alkalmazni. A szilárd fázisú extrakció a minta-előkészítés során alkalmazott kishatékonyságú folyadékkromatográfiás tisztítás. A minta-előkészítésben alkalmazott SPE lépések célja kettős: a minta tisztítása és a mérendő komponensek dúsítása. Az SPE oszlopok töltetei hasonlóak az analitikai célra alkalmazott kolonnák tölteteivel, így az SPE során egy oszlopkromatográfiás tisztítást végzünk. Az SPE töltetek osztályozása azonos a HPLC-kolonnák tölteteivel, az oldószererősség is közel azonos. Hidrofil módosított kopolimer SPE esetén például a metanol az acetonnitrilnél erősebb oldószer.

A mintatisztításhoz használatos SPE oszlopok töltetei:

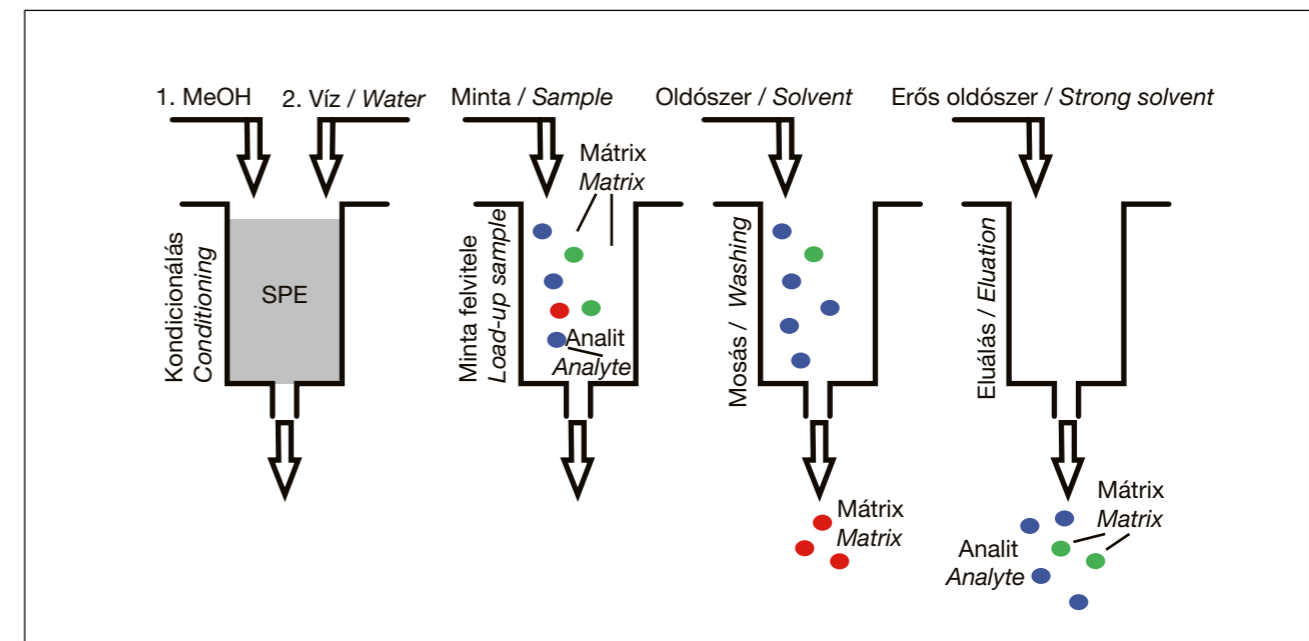
- Poláris (normál fázisú) pl.: szilika gél, $-NH_2$.
- Apoláris (fordított fázisú) pl.: alkilmódosított szilika, polimer alapú fázis.
- Ioncserés (erős, gyenge ioncserélők, kevert módú).

A fordított fázisú töltetek közül leggyakrabban a C-18-as, illetve utó-szilánizált (end-capped) C-18-as tölteteket használnak, de a polimer alapú (pl.: sztírol-divinil-benzol) állófázisok alkalmazása is elterjedt, főképp az LC-MS/MS analízisek során [4]. A polimer alapú SPE oszlopok előnye, hogy pH 0-14-ig alkalmazhatók, a szilika alapú állófázisok alkalmazhatósági pH tartománya pedig szűkebb, 2-9 között van. Az LC-MS/MS módszerekben gyakori az olyan kopolimer SPE oszlopok használata, melyek töltetei az apoláris felület mellett poláris részeket is tartalmaznak (hidrofil módosított SPE). Visszatartásuk így a hidrofil és lipofil vegyületekre is megfelelő [5]. A kopolimer állófázis kialakításánál az apoláris divinilbenzol fázisba poláris N-vinilpirolidon csoportokat illesztenek be (1. ábra). Ezáltal egy olyan jól nedvesíthető töltet jön létre, amely a polárisabb molekulákat az N-vinilpirolidon csoportokon dipol – dipol kölcsönhatás és/vagy hidrogénhid révén adszorbeálja, míg az apoláris vegyületek $\pi-\pi$ kötással vagy hidrofób kölcsönhatással kötődnek meg a fordított fázison.

Az SPE során a mintákat jól kondicionált oszlopokra visszük fel (2. ábra). A kondicionálás célja, hogy nedvesítsük a töltetet, eltávolítsuk a pórusokból a gyártás során visszamaradt technikai szennyezőket, illetve a levegőt. A kondicionálás során mindig erős szerves oldószerrel mossuk az oszlopot először, majd a leggyengébbel fejezzük be (vizes oldószer).



1. ábra. Példa hidrofil módosított kopolimer töltetre.
Figure 1. An example for a hydrophilic modified co-polymer adsorbent.



2. ábra. Az SPE tisztítás menete.
Figure 2. Process of SPE clean-up.

Fontos lehet, hogy a kondicionálás során utoljára használt oldószer pH-ja megegyezzen a mintaoldat pH-értékével. Az oszlopra felvitt minta oldószereinek is a lehető leggyengébbnek kell lennie, hogy a komponensek szorpciója meginduljon az állófázis felé. Arra viszont ügyelni kell, hogy a minta oldószere még jól oldja a mintát, a komponensek ne váljanak ki az oszlopra öntés előtt. Fontos, hogy a minta áramlása lassú legyen az oszlopon, ugyanis a célkomponenseknek az oldószereiből a szilárd felületre történő diffúziójához idő kell. A tölteten megkötődött komponensek mellől a mátrixvegyületeket az oszlop mosásával távolítjuk el (2. ábra). Itt is fontos, hogy a mosóoldat olyan gyenge oldószer legyen, amely nem indítja el a meghatározandó analitek elúcióját. A célkomponenseket az oszlop vákuummal történő szállítását követően valamely erős szerves oldószere (metanol, acetonitril, etilacetát) tudjuk eluálni. Úgy a mosóoldat, mint az eluáló oldószer erőssége, pH-ja fontos szerepet játszik van a mintatisztításában.

A szilárd fázisú extrakció során a mátrixkötő vegyületek egy részét tudjuk csak eltávolítani a mintából. Azon mátrixvegyületek, melyek fizikai-kémiai tulajdonságai hasonlóak a célvegyület fizikai-kémiai tulajdonságaihoz, azok együtt adszorbeálódnak, koncentrálnak és eluálódnak a célkomponensekkel (2. ábra). Ezeket a mátrixkomponenseket az LC-MS/MS analízis során választjuk el a célvegyületektől.

Az LC-MS/MS méréseknél gyakori az ún. „dilute and shoot” módszer alkalmazása a magasabb határértékű (>100 µg/kg) célkomponensek meghatározására. Ez a gyakorlatban annyit jelent, hogy a minta extrakcióját követően az extraktumot csak hígítjuk, és szűrést követően injektáljuk a készülékbe, mintatisztítási lépést (clean-up) nem alkalmazunk. Erre a célra azonban nagyérzékenységű készülékek alkalmazása szükséges, ha a célkomponensek határértéke alacsony (<1-10 µg/kg). Az a legjobb megoldás, ha a „dilute and shoot” módszert izotóphígítással kombináljuk, mert ilyen esetben a mátrixhatást az izotópjelzett belső standarddal kompenzálni lehet. A folyadékállapotú minták (pl.: vizelet, tej) esetén a szilárd folyadék extrakció nem alkalmazható, így a mintát nem lehet elválasztani az extraktumtól, ami nehezíti a

„dilute and shoot” módszer alkalmazását. Ráadásul a folyadékállapotú élelmiszerminták és testvadászok esetén a határértékek akár egy-két nagyságrenddel is kisebbek lehetnek a szilárd állapotú élelmiszer mintákra megállapított határértékekhez képest, ennek következtében a folyadékállapotú minták dúsítása szükséges lehet az előkészítés során.

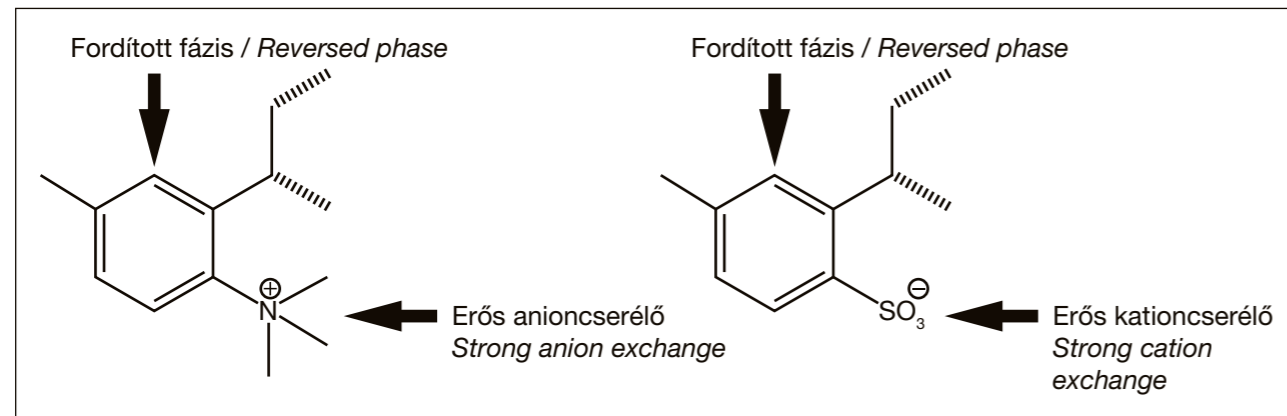
3.3. Polimer alapú kevert módú SPE oszlopok

A szilárd fázisú extrakció hatékonysága tovább növelhető, ha nem csak fordított fázist, hanem (erős vagy gyenge) ioncserélő csoportokat is tartalmaz az SPE oszlop töltete (3. ábra). Az így kialakított tölteteket tartalmazó SPE oszlopokat nevezzük kevert módúaknak. Kevert módú SPE oszlopok használata esetén az extrakció során a hidrophil oldallánccal módosított kopolimer SPE-töltetek nagyfokú visszatar-tása biztosítja a célkomponensek minimális veszteségét [5]. A célvegyületek mellett az SPE oszlopon a mátrixkötők retenciója is nő, ami viszont növeli a mátrixhatást az LC-MS/MS analízisben. Így szükséges lehet komplex minták esetén (pl.: testvadászok) olyan SPE alkalmazása, amely megfelelő szelektivitást biztosít a célvegyületek számára.

A polimer alapú kevert módú erős anioncserélő SPE oszlop (Mixed Anion eXchange - MAX) a fordított fázis mellett kvaterner-ammónium csoportokat is tartalmaz. A nem túl poláris neutrális és bázikus célvegyületek az SPE oszlop fordított fázisán adszorbeálódnak, míg a gyenge savas jellegű vegyületek a pH függvényében vagy az anioncserélő csoportokon vagy a fordított fázison. A kevert módú erős kationcserélő SPE oszlop (MCX) benzolszulfonsav csoportokat tartalmaz. A neutrális és savas vegyületek az MCX oszlop fordított fázisán kötődnek, míg a gyenge bázikus vegyületek az ioncserélő szulfonsav csoportokon vagy a fordított fázison tudnak adszorbeálódni a pH függvényében.

3.4. Kortikoszteroidok

A kortikoszteroidok az állatgyógyászatban gyakran és széles körben alkalmazott gyulladáscsökkentő szerek [6]. A leggyakrabban alkalmazott szintetikus



3. ábra. A kevert módú erős ioncserélő SPE oszlopok töltetei.
Figure 3. Mixed mode strong ion exchange SPE column packing.

kortikoszteroid tartalmú készítmények hatóanyagai a dexametazon, a prednizolon vagy a metilprednizolon, illetve ezek egyéb származékai (1. táblázat). Gyulladáscsökkentésre legálisan alkalmazhatóak a kortikoszteroidok, az állati eredetű élelmiszerekben maradékanyag tolerancia határértékkel (MRL) rendelkeznek [7], [8]. Tömegnövelő hatásuk miatt viszont a túlzott használatuk tiltott, ezért az élelmiszertermelő állatok vizelete nem tartalmazhat szintetikus kortikoszteroid szermaradékot. Az élelmiszeranalitika

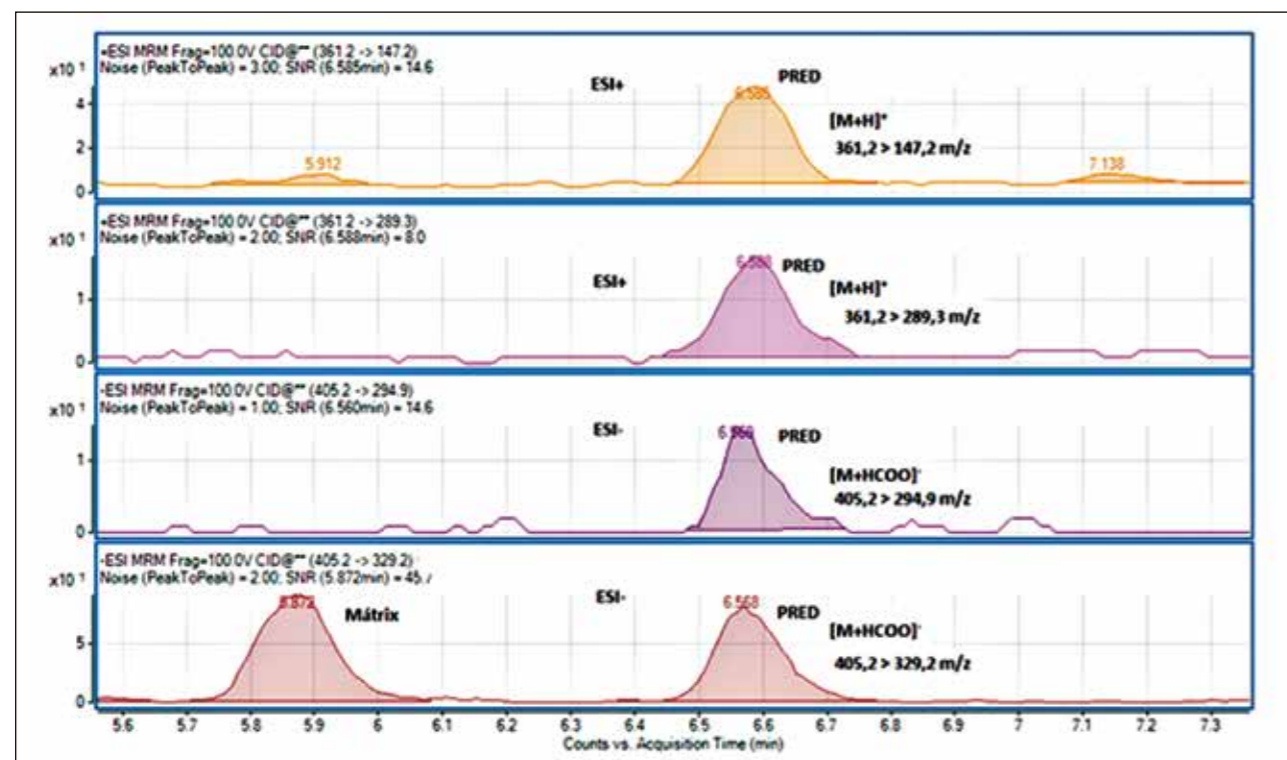
szórán főképp a vágóhídi vagy az élőállattól származó vizeletmintákból történik a meghatározásuk. Vizeletmintákra az EU olyan koncentráció értéket ún. MRPL szintet (Minimum Required Performance Limit) határozott meg a célkomponensekre, melyet az adott analitikai módszerrel minimálisan tudni kell detektálni. A kortikoszteroidok közül csak a dexametazon (DXM) és a betametazon (BTM) rendelkezik MRPL értékkel, amely jelenleg 2 ng/mL [9].

1. táblázat: A szintetikus kortikoszteroidok szerkezete és az EU-ban hatályos MRL/MRPL értékük.
Table 1. Structure of synthetic corticosteroids and the value of MRL/MRPL forced in EU.

Kortikoszteroidok Corticosteroids	Rövidítés Abridgement	C6	C9	C11	C16	C16-17	C17	Állatfaj Species	Minta Sample	MRL (µg/ kg)	MRPL (ng/ mL)
Prednizolon	PRED			-OH			-OH	szarvasmarha cow	izom muscle	4	-
									máj, vese liver, kidney	10	-
									tej / milk	6	-
Prednizon	PREDON			=O			-OH	-	-	-	
Dexametazon	DXM		-F	-OH	-CH ₃ (α)		-OH	szarvasmarha, sertés, lófélék cow, pig, horse	izom muscle	0,75	-
									máj liver	2	-
									vese kidney	0,75	-
									tej / milk	0,3	-
szarvasmarha cow	vizelet urine	-	2								
Betametazon	BTM		-F	-OH	-CH ₃ (β)		-OH	szarvasmarha, sertés, lófélék cow, pig, equines	izom muscle	0,75	-
									máj liver	2	-
									vese kidney	0,75	-
szarvasmarha cow	tej / milk	0,3	-								
szarvasmarha cow	vizelet urine	-	2								
Metilprednizolon	METPRED			-CH ₃			-OH	szarvasmarha cow	izom, máj, vese muscle, liver, kidney	10	-
Metilprednizon	METPRE- DON			-CH ₃			-OH		tej / milk	2*	-
Flumetazon	FLU		-F	-OH	-CH ₃		-OH			-	-
Triamkinolon	TRIAM		-F	-OH			-OH			-	-
Triamkinolon acetonid	TRIAM-AC		-F	-OH		-O-C(CH ₃) ₂ -O-				-	-

* Az MRL érték 2011-től érvényes [8]. / Value of MRL is valid from 2011 [8].

A kortikoszteroidok neutrális vegyületek, viszont a magas pH-n (>13) a szteránvázon levő hidroxil csoport(ok) disszociációja megindul, aminek következtében a kortikoszteroidok nagyon gyenge savas jellegre tesznek szert. A kortikoszteroidokat kromatográfiás szempontból a közepesen poláris (Log P = 0,32 – 2,31), neutrális vegyületek közé sorolhatjuk (**1. táblázat**). Fordított fázisú folyékkromatográfiás analízis során teljesen porózus és héjszerkezetű kolonnán is megfelelő retenció és csúcsszimmetria mellett választhatóak el. Tömegspektrometriás (MS) detektálás során pozitív és negatív ionizációs módokban is adnak prekursor iont (**4. ábra**) electrospray (ESI) és atmoszférikusnyomású kémiai ionizációs (Atmospheric Pressure Chemical Ionisation - APCI) ionforrások alkalmazása esetén is jó hatással ionozálhatók. Pozitív módban protonált molekulaionként ($[M+H]^+$) mérhetők, míg negatív polarizáció mellett formiát ($[M+HCOO]^-$) vagy acetát ($[M+CH_3COO]^-$) addukt anyaióként a mozgófázis összetételétől függően [5], [10], [11], [12], [13] detektálhatók. A **4. ábra** a prednizonon ionátmeneteit mutatja pozitív és negatív ionizációs módokban acetonitril- -0,1% hangyasavat tartalmazó víz (v/v) eluens-összetétel mellett. A polarizációs módok változtatása lehetőséget biztosít a szelektivitás növeléséhez. Az 5,9 percnél eluálódó mátrixvegyület csak negatív ionizációs módban jelenik meg a kromatogramon. Ugyanakkor a pozitív ionizáció érzékenysége egy nagyságrenddel kisebb a negatív ionizációhoz képest. A polarizációs módok változtatása lehetőséget biztosít a szűrő (screening) és a megerősítő módszerek elválasztásához. Míg screening esetén pozitív módban kerülnek a kortikoszteroidok detektálásra, addig konfirmáció esetén negatív ionizációs módot lehet alkalmazni [13].



4. ábra. A prednizonon MRM ionátmenetei pozitív és negatív ionizáció mellett.
Figure 4. MRM ion transitions of prednisolone by positive and negative ionisation.

3.5. Stanozolol metabolitok

A stanozolol egy szintetikus szteroid, amely a tiltott hozamfokozók csoportjába tartozik. A stanozolol a szervezetben gyorsan metabolizálódik. Fő metabolitjai a 16-hidroxi-stanozolol (16-OH-STN), a 3'-hidroxil-stanozolol (3'-OH-STN) és a 4-hidroxi-stanozolol (4-OH-STN) (**5. ábra**), amelyek vizeletből mutathatók ki [14], [15]. A stanozolol metabolitok gyenge bázikus vegyületek (pKa 3,05 – 5,35), fordított fázisú LC elválasztás után pozitív módú ESI ionizáció mellett nagyérzékenységgel mérhetők LC-MS-sel [15].

3.6. Mátrixhatás

A célkomponensekkel koeluálódó mátrixalkotók a célvegyületek ionizációját befolyásolják az ionforrásban. Elnyomják, esetleg felerősítik a mátrixvegyületek az analitek ionizációját. Nem csak a mátrixalkotók, hanem az együtt eluálódó célkomponensek is okozhatják egymás ionnyomását. Hogy milyen irányban (elnyomás/erősítés) és milyen mértékben (%) változtatják meg a mátrixalkotók egy adott célvegyület ionizációját, azt abszolút mátrixhatás vizsgálatával tudjuk meghatározni [3]. Az abszolút mátrixhatás (Matrix Effect - ME%) a mátrixra illesztett és mátrix nélküli (tisztá oldószeres) kalibrációk meredekségeinek összehasonlításával egyszerűen számítható. $ME (\%) = (a_{\text{mátrix}} / a_{\text{oldószer}} - 1) \times 100$, ahol $a_{\text{mátrix}}$ a mátrixra illesztett kalibráció meredeksége és $a_{\text{oldószer}}$ a mátrix nélküli kalibráció meredeksége. Amíg az ME (%) <0 ionnyomást mutat, addig az ME (%) >0 ionerősítést jelent. Az abszolút mátrixhatás reprodukálhatósága adja a relatív mátrixhatás értékét [3]. A relatív mátrixhatás a mátrixra illesztett kalibrációk meredekségei-

nek szórásából számítható. Ez esetben 5 különböző eredetű, de azonos mintákból felvett kalibrációk meredekségeit kell meghatározni. Például 5 különböző szarvasmarhától származó vizeletből kell 5 kalibrációt készíteni, úgy hogy a vak vizeletek extraktumait adagoljuk adott koncentrációs szintekre és ezekből a mintákból vesszük fel az öt kalibrációt. A kalibrációk meredekségeinek relatív szórása (RSD%) adja a relatív mátrixhatás értékét [3]. Meghatározható a relatív mátrixhatás egy adott koncentrációs szinten is, például a célkomponens határértékén. Ilyenkor vakminták (öt különböző szarvasmarha vizelet) extraktumait adagoljuk a minta-előkészítést követően a határértéknek megfelelő koncentrációra.

Analizáljuk a mintákat és a kromatográfiás csúcsterületek relatív szórásaként (RSD%) adjuk meg a relatív mátrixhatás értékét az adott koncentrációs szinten. A mátrixhatás reprodukálhatóságának vizsgálata azért is fontos, mert a mérések során mátrixra illesztett kalibrációval kompenzáljuk a tesztmintákban levő mátrixhatást. Ha a mátrixhatás jól reprodukálható, akkor a tesztmintában és a kalibrációs mintában közel azonos értékű mátrixhatás éri a célkomponenseket, ezáltal a mátrixhatás jól kompenzálható lesz.

A mátrixhatás kompenzálására alkalmazhatunk izotóphígítást is. Ilyenkor a tesztmintát a célvegyület stabil izotópjelzett analógjával, mint belső standard (Internal Standard - ISTD) adagoljuk. A célkomponens és az ISTD koelúciója következtében ugyanaz

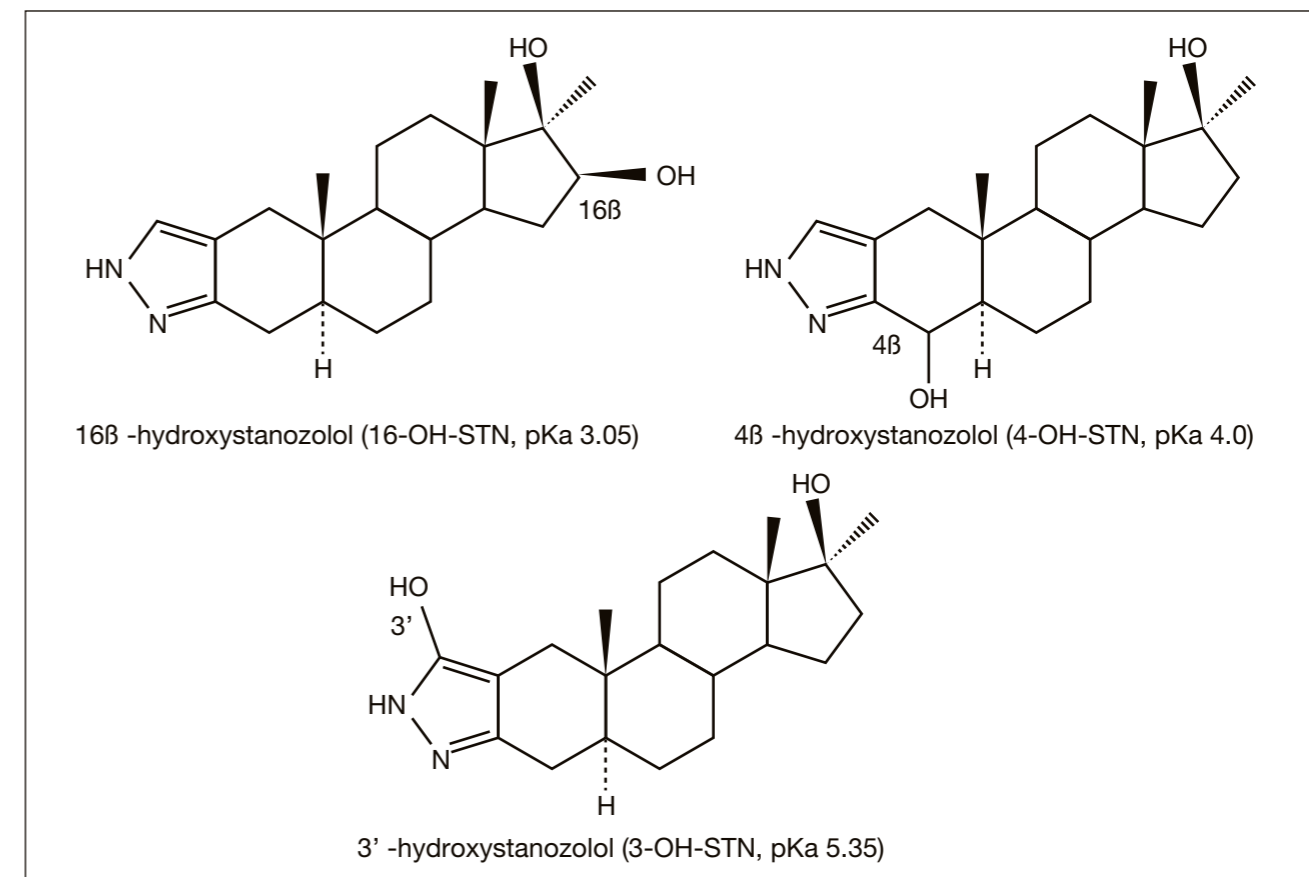
a mátrixhatás éri a jelületlen és az analóg jelölt vegyületet is, így a válaszjelek (kromatográfiás csúcsterületük) aránya, az izotóparány, a mátrixhatástól független lesz.

4. Vizeletminták előkészítése LC-MS/MS analízishez

Vizeletminták elemzése során mindig számolni kell a gyenge savas (pKa 3-7) mátrixalkotók jelenlétével, amelyek döntően befolyásolják az analízis kimenetelét [12]. A gyenge savas mátrixok protonfunkcióját kihasználva az elválasztásuk neutrális és bázikus vegyületektől erős anioncserélő SPE oszlopokon valósítható meg.

4.1. Kortikoszteroidok

A neutrális kortikoszteroidoktól kevert módú erős anioncserélő SPE és lúgos pH kontroll alkalmazásával a gyenge savas mátrixok könnyen elválaszthatók [12]. A gyenge savas komponensek lúgos pH-n ionos kölcsönhatás révén kötődnek a kevert módú erős anioncserélő (MAX) SPE oszlop kvaterner ammónium csoportjaihoz, a neutrális célvegyületek pedig az SPE fordított fázisán adszorbeálódnak. Neutrális elúciót alkalmazva (pl.: acetonitrillel, diklórmetánnal) a savas vegyületek továbbra is ionos kölcsönhatás révén kötődnek meg az SPE oszlopon, a neutrális kortikoszteroidok ugyanakkor eluálódnak, ilyen módon szelektív extrakciós lépés valósítható meg.



5. ábra. A stanozolol metabolitok szerkezete [15].
Figure 5. Structure of stanozolol metabolites [15].

A gyenge savas mátrixok eltávolítása azért is fontos, mert a kortikoszteroidok acetát $[M+CH_3COO]^-$ vagy formiát $[M+HCOO]^-$ adduktaként adnak negatív módban érzékeny anyaiot. A gyenge savas mátrixalkotók szintén negatív módban ionizálódnak jól és így a kortikoszteroidok ionelnymását okozhatják koelúció esetén.

A szilárdfázisú extrakció során fontos a pH megválasztása, ugyanis ha a gyenge savas mátrixalkotók nem teljesen disszociált állapotban vannak, akkor a gyenge savas mátrixkomponensek is az SPE oszlop fordított fázisán fognak adszorbeálódni, majd együtt eluálódnak a célvegyületekkel.

A **2. táblázat** a kortikoszteroidok LC-MS/MS módszerű analízise során tapasztalt mátrixhatás ismételtetését mutatja vizeletmintákban különböző pH-jú SPE tisztítás után [12]. Hat különböző, szarvasmarha-vizeletből készített vakmintát készítettünk elő kevert módú erős anioncserélő SPE oszlopokon. A mintatisztítást két különböző pH-érték beállítása mellett végeztük. Az első körben a hat vizeletmintát 5,2-es pH-n készítettük elő, majd egy újabb bemérést követően már lúgos 9-9,5-es pH-n tisztítottuk meg ugyanazt a hat vizeletet. A mintákat vizes mosás után tiszta acetonnal és ezt követően még diklórometánnal eluáltuk az SPE oszlopokról. A szárazra párolást követően 6 kortikoszteroid komponenssel 2 ng/mL-es koncentráció szintre adagoltuk a mintákat, amelyeket és 50% metanolban oldottunk vissza. A mintákat LC-MS/MS módszerrel analizálva a csúcs alatti területeket komponensenként hasonlítottuk össze. A mátrixhatást a kromatográfiás csúcsterületek relatív szórásaként értékeltük 2 ng/mL-es szinten. A **2. táblázatból** jól látható, hogy savas pH-n a mátrixhatás ismételtetésége alacsony (21% - 43,1%), ezzel szemben lúgos pH-n számottevően jobb az ismételtetés (2,8% - 5,7%). Ez azzal magyarázható, hogy savas 5,2-es pH-n a gyenge savas komponensek nem képesek szelektív módon ionos kölcsönhatás révén kötődni az ioncserélő csoportokhoz így a fordított fázison együtt koncentráálódtak a kortikoszteroidokkal.

A szelektív extrakció ugyanakkor lúgos pH-n jól működött, mert a gyenge savas mátrixalkotók teljesen disszociált állapotban ionos kölcsönhatással kapcsolódtak az SPE oszlop töltetéhez.

Neutrális elúciót alkalmazva csak a fordított fázison adszorbeált komponensek eluálódtak, így a gyenge savas mátrixok elválasztása a neutrális kortikoszteroidoktól ezzel a lépéssel kivitelezhető volt [12].

Az optimalizált módszert nemzetközi körvizsgálatban alkalmaztuk metilprednizonon (METPRED) és metilprednizon (METPREDON) szarvasmarha-vizeletből történő meghatározására. A feladat a metilprednizonon, annak metabolitja, a metilprednizon meghatározása volt négy (A, B, C és D) vizeletmintából. Az A és B mintában csak metilprednizonon volt mérhető 0,12 - 0,67 ng/mL koncentrációban. A C minta vak volt (<0,05 ng/mL), a D mintában a metilprednizonon volt detektálható 0,84 ng/mL koncentrációban. A D minta metilprednizonon is tartalmazott, de annak értékelését nem kérte a szervező laboratórium (EU-RL Rikilt, Wageningen, Hollandia). A detektált X,XX ng/mL alatti koncentrációk mind a négy minta esetén megfelelőek voltak (3. táblázat), így az eljárás alkalmazhatósága teljes körűen sikerült igazolnunk [12]. A körvizsgálat eredményét abban az esetben tekintettük megfelelőnek, ha az egyes Z-értékek -2 és 2 közötti tartományba estek.

4.2. Stanozolol metabolitok

A stanozolol metabolitok (5. ábra) gyenge bázikus vegyületek (pKa 3,05 - 5,35), így savas pH-n ($pH < pKa - 2$) jól kötődnek a kevert módú kationcserélő SPE oszlop (MCX) szulfonsav csoportjaihoz ionos kölcsönhatás révén. A minta pH-ját 1-re állítva a metabolitok szelektív extrakciója jól kivitelezhető kevert módú kationcserélő SPE-n. A savas és neutrális mátrixalkotók az MCX SPE oszlop fordított fázisú felületén kötődnek meg, és a bázikus célvegyületektől neutrális szerves oldószerrel történő mosással választatók el. 1-nél magasabb pH alkalmazása nem lehetséges, mert a kevésbé savas közegben nem valósulna meg a metabolitok szelektív kötődése az SPE oszlop kationcserélő csoportjaihoz, mivel csak részben lennének ionos állapotban. A metabolitokat bázikus szerves oldószerrel (ammónia tartalmú metanol vagy acetonnal) lehet a kationcserélő SPE oszlopról eluálni. A vonatkozó visszanyerések a vizelet-mátrixban 10% - 71% között változtak [15].

Az alacsony visszanyerés oka az, hogy 1-es pH-n a mintában levő, valamennyi bázikus mátrixvegyület a kationcserélő csoportokon kötődnek, így a bázikus mátrix komponensek együtt koncentráálódnak a metabolitokkal a kationcserélő csoportokon. A bázikus mátrixvegyületek egyrészt zavarják a metabolitok kötődését a szulfonsav csoportokhoz alacsony pH-n, másfelől a HPLC elválasztás során koelúció esetén befolyásolják a metabolitok ionizációját, ami az alacsony visszanyerési értékeket eredményezheti.

Kevert módú erős anioncserélőt (MAX) alkalmazva 10-es pH-n a metabolitok a fordított fázison adszorbeálódnak, míg a savas mátrixalkotók ismét ionos kölcsönhatás révén az ioncserélő csoportokon. A bázikus mátrixalkotók a polaritásuktól függően a fordított fázisú felületen tudnak kötődni, visszatartásuk kisebb, mint az MCX oszlopon savas pH mellett. Dietiléteres eluálás után a metabolitok visszanyerése vizeletmintákban 78% - 97% [15]. Annak ellenére, hogy a stanozolol metabolitok bázikus vegyületek, a tisztítási és dúsítási módszer MAX SPE oszloppal jobbnak bizonyult, mint MCX oszloppal.

A módszer alkalmazhatóságát kontrollminták mérésével igazoltuk. Kísérleteink során stanozolollal kezelt szarvasmarhák vizeleteiből (2 mintából) a főmetabolitot, a 16-OH-STN-t kellett meghatározni. A detektált koncentrációk 0,99 ng/mL és 2,83 ng/mL-nek adódtak. A mintákhoz hozzárendelt értékek $0,90 \pm 0,53$ ng/mL és $2,20 \pm 1,22$ ng/mL volt. A módszer pontossága kezelt állatoktól származó vizelet minták elemzése esetén is megfelelő [15].

5. Tejminták előkészítése LC-MS/MS analízishez

Tejminták analízise során is számolni kell a protonfunkciós mátrixalkotók jelenlétével. Ezek főként ike-ionos vegyületek: aminosavak, peptidok és fehérjék. Így mind a savas, mind a lúgos pH-kontroll alkalmazását meg kell vizsgálni és ennek megfelelően megválasztani a módszerben alkalmazandó kevert módú SPE oszlopot. Kortikoszteroidok tejből történő meghatározásánál kevert módú erős anioncserélő és kevert módú erős kationcserélő SPE oszlopokat próbáltunk ki különböző pH-értékeken. A MAX oszlopon az adagolt (0,3 - 6 µg/kg) tejmintákat (n = 3) 11-es pH-n tisztítottuk. Az MCX oszlopon pedig 2,3-as pH beállítása mellett dolgoztunk. A mintákat acetonnal eluálva a visszanyerések (6. ábra) az MCX oszlopon 94% - 113%-nak adódtak, amelyek magasabb értékek, mint a MAX SPE oszlopon történő előkészítés után detektált visszanyerési adatok (56% - 73%) [16]. Az MCX oszlopon történő tisztítást más eluálószerrel is kipróbáltuk. Diklórometánnal (DCM) eluálva a mintát a visszanyerések 43% és 97% között változtak a szteroidokra. Mikor acetonnal és még diklórometánt (ACN +DCM) is alkalmaztunk eluálásra, a visszanyerések javultak, 58% és 89% közöttiek voltak (7. ábra), de az acetonos eluálással elért visszanyerési értékeket nem érték el [16]. A példa jól mutatja, hogy a kevert módú SPE esetén is fontos az eluáló oldószer megválasztása a megfelelő analitikai teljesítményjellemzők eléréséhez. A pH-optimalizált SPE után lényegesen csökkent a mátrixhatás az LC-MS/MS analízis során, ami lehetővé tette a tejminták nagyarányú dúsítását és vele együtt a

3. táblázat: Körvizsgálati eredmények.
Table 3. Results of ring test.

Minta Sample	Detektált komponens Detected components	Mért értékek (ng/mL) Measured values (ng/mL)	EU-RL értékei (ng/mL) EU-RL values (ng/mL)	Z-érték Z-values	Értékelés Evaluation
A	METPRED	0,67	0,71	0,14	Megfelelő / Satisfactory
B	METPRED	0,12	0,11	-0,44	Megfelelő / Satisfactory
C	-	< LOD	< LOD	-	Megfelelő / Satisfactory
D	METPREDON	0,84	0,71	-0,06	Megfelelő / Satisfactory

4. táblázat: Kortikoszteroidok kimutatási határai tejben különböző ionizációs technikák mellett.
Table 4. Detection limits of corticosteroids from milk samples using different ionisation technics.

Kortikoszteroidok / Corticosteroids	MMI ionforrás APCI módban MMI ion source with APCI mode	Módosított ESI ionforrás Modified ESI ion source
	LOD (ng/kg)	LOD (ng/kg)
PRED	60	2
METPREDON	60	3
DXM	20	1
FLU	20	1
METPRED	70	6

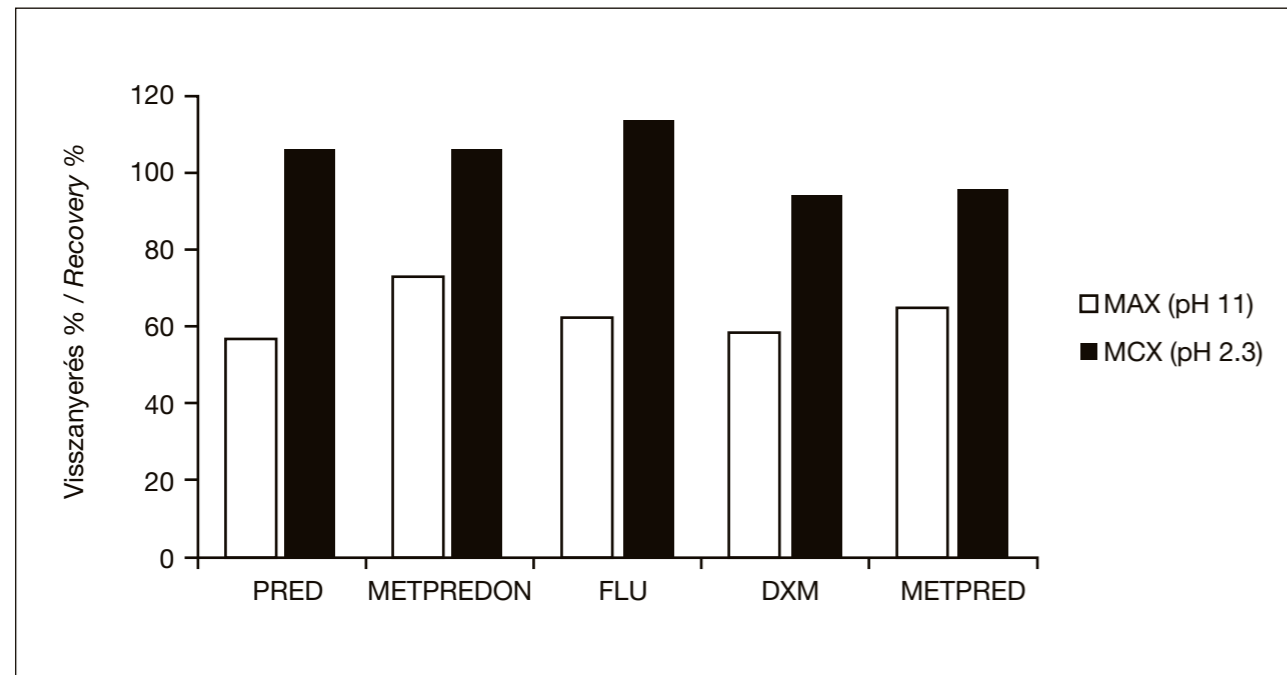
2. táblázat: A relatív mátrixhatás értéke vizeletben különböző pH-jú MAX SPE tisztítást követően.
Table 2. Value of relative matrix-effect after MAX SPE clean-up in urine samples with different pH.

Kortikoszteroidok Corticosteroids	SPE (pH - 5.2)	SPE (pH - 9-9.5)
	RSD% (n=6)	RSD% (n=6)
PRED	33.6	4.8
DXM	31.1	3.2
METPRED	43.1	5.7
FLU	38.2	5.2
TRIAM-AC	40.2	2.8
TRIAM	21.0	4.9

kimutatási határok (LOD) ng/kg szintre történő csökkentését (4. táblázat). Módosított ESI ionforrással az LOD értékek még alacsonyabbnak adódtak (1–6 ng/kg), mint az APCI módban működő multimód (MMI) ionforrással elérhető LOD-k (20–70 ng/kg) [16].

6. Állati szövetminták előkészítése LC-MS/MS analízishez

Az előző módszerek jól demonstrálták a polimer alapú SPE oszlopok visszatartását kortikoszteroidokra. Így a szövetminták (szarvasmarha izom, máj és vese) esetén az SPE optimalálásánál már csak a mátrixhatások vizsgálatára helyeztük a hangsúlyt, mert a szövetmátrix lényegesen eltérő a korábban vizsgált mintáktól (tej, vizelet). Három különböző pH-beállítás (savás, neutrális és bázikus) mellett extraháltuk a szövetmintákat, a pH-kontrollt a szilárd folyadék extrakció során is megtartva. Savas (i) extrakciót követően a mintákat 2,3-as pH-n MCX SPE oszlopon készítettük elő. A kopolimer SPE oszlopot neutrális (ii) 7-es pH-n alkalmaztuk, míg bázikus (iii) 11-es pH-n a MAX SPE oszlopot próbáltuk ki [17]. Savas pH-kontroll mellett a kortikoszteroidokra a három szövetminta esetén az abszolút mátrixhatás számértéke -30,2% és +15,0% között változott. A relatív mátrixhatás értéke 0,7% és 10,7% között volt. Hetes pH-n történő előkészítés során az ionnyomás mértéke (-68,4% és -18,5%) magasabb volt (főként izom minták esetén), mint savas pH-n. A mátrixhatás reprodukálhatósága is alacsonyabbnak adódott (4,0% és 11,2%) az MCX SPE előkészítéshez képest. Ez annak a következménye, hogy a kopolimer SPE oszloptól nem rendelkezik azzal a kellő szelektivitással, amelyet a kevert módú MCX SPE töltet savas pH-kontroll mellett garantál [17].



6. ábra. Kortikoszteroidok visszanyerése kevert módú SPE oszlopokon acetonos eluálás mellett.
Figure 6. Recovery of corticosteroids using mixed-mode SPE column packing with acetone elution.

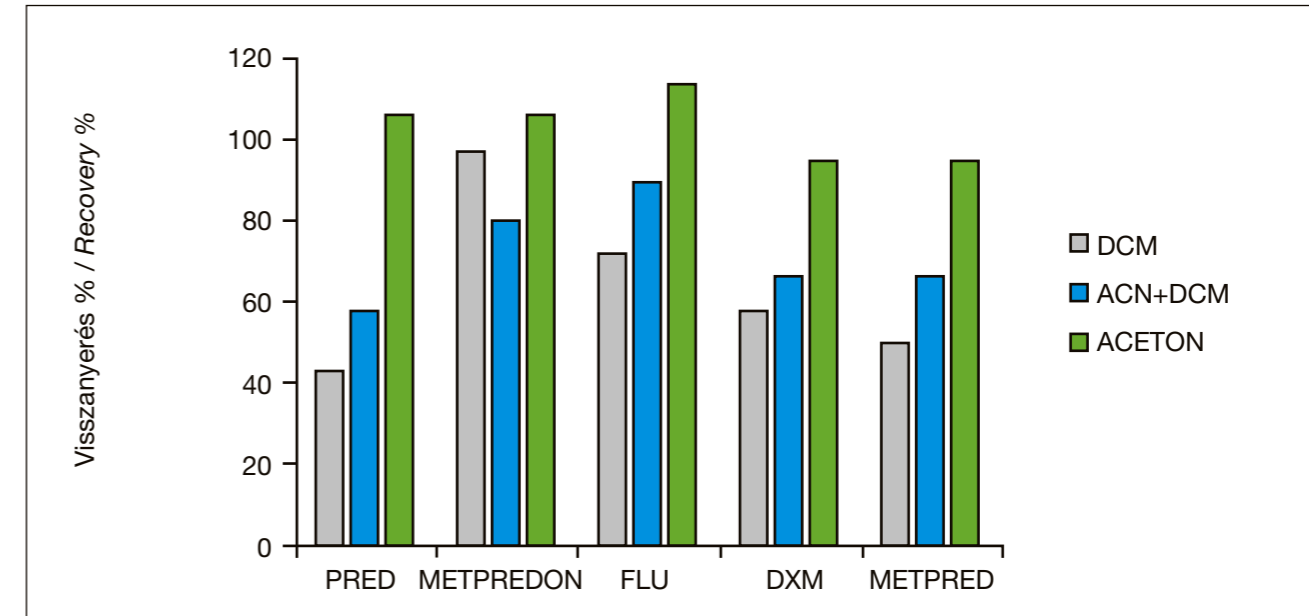
Annak érdekében, hogy teljes mértékben meggyőződjünk a pH szerepéről a minta-előkészítésben, a mátrixhatást bázikus pH-kontroll mellett is kiértékeljük a mind a 3 szövetmintában. Az abszolút mátrixhatás -44,4% és -4,1% közötti értékek adódtak MAX SPE oszlop használata után. A mátrixhatás reprodukálhatósága pedig 6,5% és 12,9% között változott. Mind a három szövetminta esetén a kevert módú MCX vagy MAX SPE oszlop alkalmazása volt az előnyösebb a hidrophil módosított kopolimer SPE oszlophoz képest. Izomminták esetén az MCX SPE eredményezte a legalacsonyabb mátrixhatásokat, míg vese esetén a MAX SPE oszlop használata bizonyult kedvezőbbnek. Máj esetén nem volt lényeges különbség az MCX és a MAX SPE oszlopok között a mátrixhatások tekintetében [17]. Tapasztalataink az is jól szemléltetik, hogy a különböző mátrixú szövetminták esetén az LC-MS/MS mérés mátrixhatása miképp változik.

A módszer további előnye a kortikoszteroid epimerrek, a dexametazon (DXM) és a betametazon (BTM) egymástól való elválasztása. A két epimer a szteránváz 16-os szénatomján levő metil-csoport térállásában különbözik (1. táblázat), így az alapvonalig történő elválasztásukhoz megfelelő szelektivitású HPLC oszlop alkalmazása szükséges. A minél nagyobb kromatográfiás felbontás a két epimer között azért fontos, mert a DXM és a BTM ionátmenetei megegyeznek és így az MS/MS detektor nem képes külön tömegcsatornán érzékelni a két kortikoszteroidot. A két epimer között izokratikus elválasztással metanol/(5 mM ammónium acetát) és 0,01% ecetsav vízben (50/50, pH 5,4) összetételű mozgófázissal héjszerkezetű fenil-hexil oszloppal 1,05-ös szelektivitási faktor érhető el (8. ábra) [17].

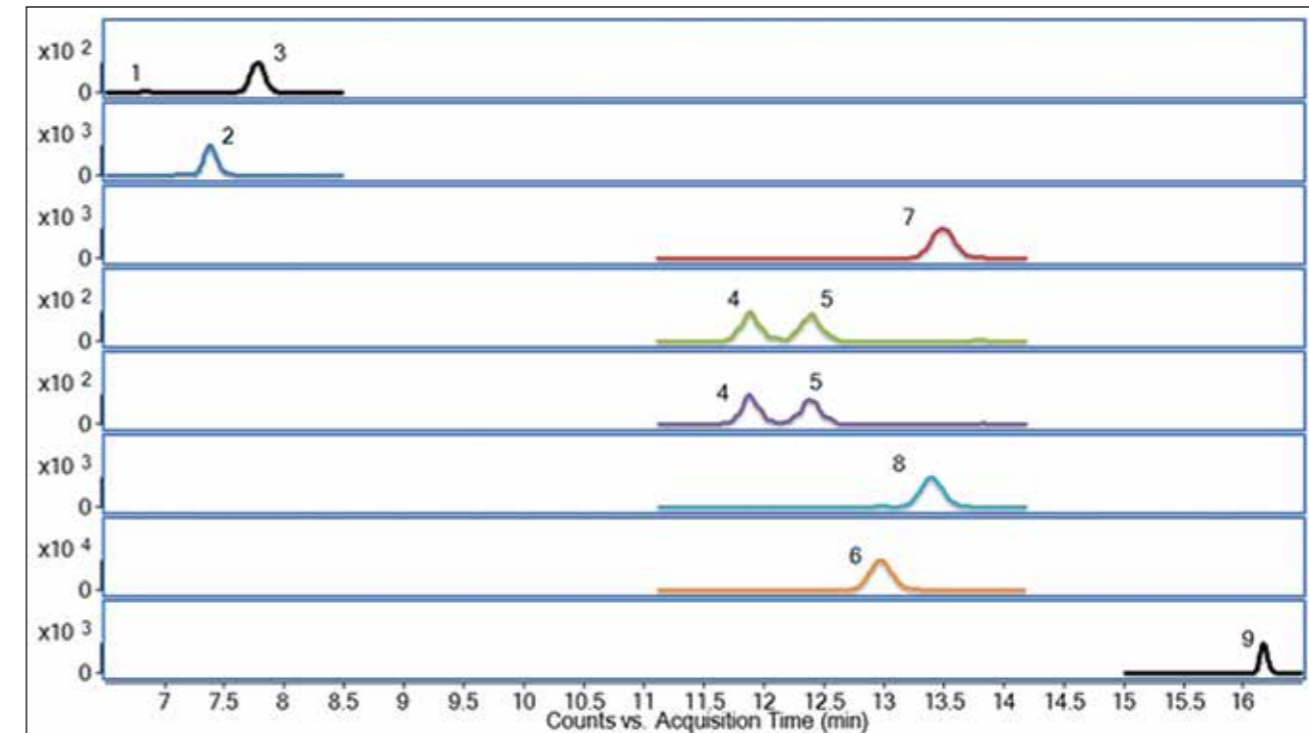
A fenti leírás alapján kidolgozott LC-MS/MS-módszerrel egy kontroll mintát is elemeztünk, az eljárás pontosságának igazolása végett. A minta természetes szennyezőként dexametazont tartalmazott. Három független analízis eredményeként a detektált dexametazon koncentrációk rendre 1,63 µg/kg, 1,58 µg/kg és 2,18 µg/kg értékűnek adódtak. Átlagértékük $1,78 \pm 0,35$ µg/kg volt. A kontrollminta tanúsítványa szerint a koncentrációk 0,85 és 5,97 µg/kg tartományban elfogadhatók, tehát a módszer pontosságát kezel állattól származó mintában is sikerült igazolni [17].

7. Kevert módú vs. hidrophil módosított kopolimer SPE

Előbbi példánkban a szimultán meghatározandó célvegyületek kromatográfiás szempontból azonos csoportba tartoztak. Valamennyi kortikoszteroid nagyon gyengén savas, inkább neutrális vegyület. A stanazolol metabolitok gyenge bázikus jellegűek. Amikor neutrális és protonfunkciós célkomponenseket kell együtt meghatározni (pl.: *Alternaria* toxinok), nem biztos, hogy a kevert módú SPE nyújtotta szelektivitás kihasználható. Az *Alternaria* toxinok gyenge



7. ábra. Kortikoszteroidok visszanyerése MCX SPE oszlopon különböző eluálás mellett.
Figure 7. Recovery of corticosteroids in MCX SPE with different eluents.



8. ábra. Kortikoszteroidok elválasztása héjszerkezetű fenil-hexil HPLC oszlopon. A komponensek: 1. mátrix csúcs; 2. PREDON; 3. PRED; 4. DXM; 5. BTM; 6. METPREDON; 7. METPRED; 8. FLU; 9. TRIAM-AC.
Figure 8. Separation of corticosteroids. Components: 1. matrix peak; 2. PREDON; 3. PRED; 4. DXM; 5. BTM; 6. METPREDON; 7. METPRED; 8. FLU; 9. TRIAM-AC.

savas vegyületek, kivéve a tentoxint, amelynek molekulája neutrális. Így kevert módú anioncserélő SPE oszlopon a tentoxin nem képes az anioncserélő csoportokon kötődni. Kevert módú kationcserélő savas pH-n a toxinok a fordított fázisú felületen adszorbeálódnak és a bázikus jellegű mátrixok így könnyen eltávolíthatók a mintából. Ennek ellenére a toxinokat az MCX SPE oszloptölteten végzett tisztítás után is magas mátrixhatás éri az LC-MS/MS mérés során, amiből arra lehet következtetni, hogy a neutrális vagy gyenge savas jellegű mátrixalkotók okozzák az *Alternaria* toxinok ionelnyomását az ionforrásban [18]. Ez esetben, amikor eltérő fizikai-kémiai tulajdonságú (savas és neutrális) vegyületeket kell egymás mellett meghatározni, a kevert módú SPE oszloptöltet biztosította előnyök nem használhatóak ki, helyette és a hidrofil módosított kopolimer SPE töltet alkalmazása a megfelelőbb.

8. Következtetések

Az LC-MS/MS technikán alapuló módszerek megbízhatósága jelentősen függ a minta-előkészítésének módjától. A tisztítási lépések célja, hogy a célkomponensekkel koelválódó, de a detektor számára láthatatlan, mátrixalkotók koncentrációját minimalizáljuk. A hagyományos fordított fázisú szilárd fázisú extrakció során a célvegyületekkel azonos polaritású mátrixkomponensek együtt koncentrálnak az analitekkel. Amennyiben a folyadékkromatográfiás elválasztással nem sikerül megfelelő felbontást elérni a mátrixalkotók és a célkomponensek között, akkor feltehető, hogy a mátrix az analit ionizációját befolyásolhatja az ionforrásban. Ezért szükséges lehet olyan SPE oszlopok alkalmazása, amelyek szelektív kötőhelyeket biztosítanak a célvegyületeknek és a mátrixkomponenseknek is. A kevert módú SPE oszlopok az ioncserélő csoportok révén teszik lehetővé még a legösszetettebb minták (pl.: vizelet) nagymértékű tisztítását is a célvegyületek minimális vesztesége mellett.

9. Irodalom

- [1] Az alapfogatok általános kérdései. http://www.wesley.hu/files/Az_alapfogatok_altalanos_kerdesei.doc (Hozzáférés: 2016. 04. 12.)
- [2] Vidékfejlesztési Minisztérium- 10/2002. (I.23.) FVM rendelete. <http://www.fvm.hu/main.php?folderID=1978&articleID=4623&ctag=articlelist&iid=1> (Hozzáférés: 2016. 04. 12.)
- [3] Matuszewski, B.K., Constanzer, M.L., Chavez-Eng, C.M. (2003): Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS, *Anal. Chem.* 75. p. 3019–3030
- [4] Tölgyesi, Á., Sharma, V.K., Fekete, S., Fekete, J., Simon, A., Farkas, S. (2012): Development of a rapid method for the determination and confirmation of nitroimidazoles in six matrices by fast liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 64-65. p. 40-48

- [5] Tölgyesi, Á., Verebey, Z., Sharma, V. K., Kovacsics, L., Fekete, J. (2010): Simultaneous determination of corticosteroids, androgens, and progesterone in river water by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Chemosphere* 78. p. 972-979
- [6] Törzskönyvezett állatgyógyászati szerek. http://www.nebih.gov.hu/szakteruletek/szakteruletek/allatgyogyaszati_igazgatosag/koz-erdeku/torzskonyvezes/forgalmazhato/nemzeti (Hozzáférés: 2016. 04. 14.)
- [7] Commission Regulation (EU) 37/2010, Off. J. EU. Legis (2010) L 15/1.
- [8] Opinion of the Committee for Medicinal Products for Veterinary Use on the establishment of maximum residue limits. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum-residue-limit_opinion/2012/03/WC500124459.pdf (Hozzáférés: 2016. 04. 14.)
- [9] CRL Guidance Paper: CRLs view on State of the art analytical methods for national residue control plans, RIVM-NL (2007). http://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/09_Untersuchungen/EURL_Empfehlungen_Konzentrationsauswahl_Methodenvalidierungen.pdf?blob=publicationFile (Hozzáférés: 2016. 04. 11.)
- [10] CRL RIVM The Netherlands, Analysis of corticosteroids in bovine urine using LC-MS/MS. (2009) http://www.rivm.nl/bibliotheek/digitaldepot/SOP%20ARO_517.pdf (Hozzáférés: 2016. 04. 13.)
- [11] Andersen, J. H., Hansen, L.G., Pedersen, M. (2008): Optimization of solid phase extraction clean up and validation of quantitative determination of corticosteroids in urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 617. p. 216-224
- [12] Tölgyesi, Á., Kovacsics, L., Sharma, V.K., Fekete, J. (2010): Quantification of corticosteroids in bovine urine using selective solid phase extraction and reversed-phase liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B* 878. p. 1471-1479
- [13] Tölgyesi, Á., Bartha, E., Giri, A., Simon, A., Sharma, V.K. (2017): Determination of veterinary drugs in urine, blood and food matrices using simplified liquid extraction and solid phase extraction: liquid chromatography tandem mass spectrometric methods for screening and confirmation. *J. Pharm. Biomed. Anal., Közlemény készítés alatt.*
- [14] De Brabander, H.F. et al. (1998): Multilaboratory study of the analysis and kinetics of stanozolol and its metabolites in treated calves. *Analyst* 123. p. 2599–2604
- [15] Tölgyesi, Á., Sharma, V.K., Fekete, J. (2014): Confirmatory analysis of stanozolol metaboli-

tes in bovine, pig and sheep urines using an optimized clean-up and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 88. p. 45–52

- [16] Tölgyesi, Á., Tölgyesi, L., Sharma, V.K., Sohn, M., Fekete, J. (2010) : Quantitative determination of corticosteroids in bovine milk using mixed-mode polymeric strong cation exchange solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 53. p. 919-928

- [17] Tölgyesi, Á., Sharma, V.K., Fekete, S., Lukonics, D., Fekete, J. (2012) : Simultaneous determination of eight corticosteroids in bovine tissues using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B* 906. p. 75-84

- [18] Tölgyesi, Á., Stroka, J., Tamosiunas, V., Zwickel, T. (2015): Simultaneous analysis of *Alternaria* toxins and citrinin in tomato: an optimized method using liquid chromatography – tandem mass spectrometry. *Food Addit. Contam.* 32. p. 1512-1522.



A kép illusztráció / Picture is for illustration only
Fotó/Photo: Shutterstock

Ádám Tölgyesi¹, Virender K. Sharma²

Received: May 2016 – Accepted: September 2016

Analysis of steroid derivatives by LC-MS/MS methods: selective sample preparation procedures by using mixed-mode solid phase extraction and pH control

Keywords: LC-MS/MS, solid phase extraction ion exchangers, pH, steroids

1. Summary

The analysis of veterinary drug residues and banned crop yield boosters in foods of animal origin is one of the largest and most important areas of food analysis. A prerequisite for effective tests is the development of accurate methods that satisfy the requirements of today's analysis for selectivity, low limits of detection and accuracy. The high sensitivity and selectivity of liquid chromatographic triple quadrupole tandem mass spectrometric (LC-MS/MS) methods allows for the detection of trace amounts of the organic target compounds even in complex samples. However, the reliability of LC-MS/MS methods depends greatly on the sample preparation preceding the analysis, the objective of which is to decrease the concentrations of matrix components co-eluting with the target compounds, thus minimizing the matrix effect in the ion source of the instrument. During sample preparation, low performance liquid chromatographic clean-up, the so-called solid phase extraction (SPE) is often used. The pH of the eluent is one of the most important parameters in liquid chromatography, and so the proper selection of pH during extraction can have a critical influence on sample preparation and, consequently, the accuracy of the analysis. This statement holds especially true when matrix compounds with functional groups susceptible to protonation have to be removed from the analytical sample. The objective of this paper is to present mixed-mode SPE sample preparation methods that demonstrate clearly the necessity for pH control during the extraction. Examples include the determination of both neutral and basic target compounds using mixed-mode strong ion exchange SPE columns.

2. Foreword

I always listened with great interest to the lectures of Professor Dr. Jenő Fekete on separation methods at the Budapest University of Technology and Economics. Our joint research work with him began in 2008, within the framework of the Transition Facility Project of the European Union. In five years, publications that were published in 11 international journals were prepared together, and in these the importance

of the sample preparation and the selection of pH in the methods developed were emphasized. It was already repeatedly pointed out by Professor Fekete during his academic lectures that proper adjustment of the pH is a key element of sample preparation and liquid chromatographic separation. With this paper, we would like to honor the memory of Professor Dr. Jenő Fekete.

¹ National Food Chain Safety Office, Food and Feed Safety Directorate, Food Toxicological National Reference Laboratory

² Department of Environmental and Occupational Health, School of Public Health, Texas A&M University

3. Introduction

3.1. Monitoring analyses

The right to safe food is considered a fundamental right, laid down in basic law, which is an inherent and inalienable human right of all people [1]. It is among the common goals of the European Union (EU), and so Hungary, to implement this fundamental right as broadly as possible, therefore, great emphasis is placed on continuous performance of food analyses and the continuous development of the necessary analytical methods.

In Hungary, where agricultural output plays a prominent role in the production of the gross national product, monitoring of agricultural products also deserves special attention because of the free competition within the EU. In Hungary, food toxicology surveillance tests and inspections (monitoring analyses), the procedures and the process of preparing the monitoring plan for the given year are prescribed and determined by FVM decree 10/2002 (I.23.) FVM [2]. The tests include checking the presence of veterinary drug residues in animals, their drinking water, and all other matrices related to the breeding and farming of animals [2]. The objective of monitoring tests is the supervision of the illegal use of prohibited substances and to detect improper use of authorized substances. The number of samples varies year by year with to the slaughter number, and thousands of samples are analyzed annually by the Food Toxicological National Reference Laboratory, to check the quantities of different residual substances. One of the major responsibilities of the food control authorities since 2008 have been the analysis of corticosteroid drug residues and stanozolol metabolites in the urine of food animals and in foods of animal origin.

It is a prerequisite for the effectiveness of monitoring activities to use rapid, accurate and precise analytical methods, which requires the application of modern analytical techniques. Confirmation tests of veterinary drug residues are performed by the 5th subject group of the Food Toxicological National Reference Laboratory are performed using high performance liquid chromatography (HPLC). Due to the complexity of the matrices and the need to determine low concentrations, sensitivities and selectivities that can be obtained using traditional UV or diode array (DAD) detection are not always satisfactory, and fluorescence detection (FLD) is not suitable for the analysis of each molecule. The required selectivity and the necessary low limits of detection (LOD) are achieved by today's state-of-the-art liquid chromatographic (LC) methods by using coupled techniques [3]. Of these coupled techniques, the liquid chromatographic triple quadrupole tandem mass spectrometric (LC-MS/MS) separation is one of the best techniques to provide excellent qualitative and quantitative results. It should be noted though that, even when using methods based on the LC-MS/MS tech-

nique, concentration values with proper performance characteristics can only be obtained after sufficiently thorough sample preparation.

3.2. Sample preparation, solid phase extraction

During LC-MS/MS measurements, the goal of sample preparation is to reduce the number and concentrations of matrix components co-eluting with target compounds, and so to minimize the matrix effect. The reason for this is that the ionization of target compounds in the ion source is influenced by co-eluting matrix components. In an ideal case, matrix components do not affect the ionization of the target component. In practice, however, the so-called ion suppression, when the ionization of the target component in the ion source is reduced by co-eluting matrix components is quite common. A phenomenon may also occur, when the ionization of the analyte is not suppressed in the ion source by the matrix compounds, but it is improved, and in this case we talk about ion strengthening [3]. Effects influencing the ionization of target components in the ion source are called the matrix effect in the case of the LC-MS/MS technique. Another objective of sample preparation can be the enrichment of target components, when target components are concentrated during the extraction steps. It is important to emphasize that the concentrations of the matrix components are also increased by the enrichment of the sample, which can result in a stronger matrix effect.

Sample preparation is comprised of two main parts: extraction of the sample and the purification of the extract (clean-up). The sample purification step can be avoided if further dilution of the extract is made possible by the sensitivity of the instrument or the high concentration of the target compound („dilute and shoot” methods). In the case, however, when sample enrichment is necessary, purification steps play an important role.

For the purification and enrichment of the extracts, solid phase extraction (SPE) is most commonly used. Solid phase extraction is a low performance purification used during sample preparation. SPE steps used in sample preparation serve two purposes: purification of the sample and enrichment of the components to be measured. SPE column packings are similar to the packings of columns used for analytical purposes, and so a column chromatographic purification is performed during SPE. The classification of SPE packings is identical to that of the packing of HPLC columns, and solvent strength is nearly identical. For example, in the case of hydrophilic modified copolymer SPE, methanol is a stronger solvent than acetonitrile.

SPE column packings used for sample purification:

- Polar (normal phase) e.g.: silica gel, -NH₂.
- Apolar (reverse phase) e.g.: alkyl modified silica, polymer based phase.

- Ion exchange (strong, weak ion exchangers, mixed-mode).

Of reverse phase packings, most commonly used are C-18 and post-silanized (end-capped) C-18 packings, but the application of polymer-based (e.g., styrene-divinylbenzene) stationary phases is also widespread, especially during LC-MS/MS analyses [4]. The advantage of polymer-based SPE columns is that they can be used in the 0-14 pH range, while the pH range of applicability of silica-based stationary phases is much narrower, it is between 2 and 9. In LC-MS/MS methods, copolymer SPE columns are often used, the packings of which contain polar parts in addition to the apolar surface (hydrophilic modified SPE). This way, their retention is suitable for both hydrophilic and lipophilic compounds [5]. When developing a copolymer stationary phase, N-vinylpyrrolidone groups are inserted into the divinylbenzene phase (Figure 1). This way, an easily wettable packing is generated, adsorbing more polar molecules on the N-vinylpyrrolidone groups through dipole-dipole interactions and/or hydrogen bonds, while apolar compounds are bound to the reverse phase through π - π bonds or hydrophobic interactions.

During SPE, samples are applied to a well-conditioned column (Figure 2). The goal of conditioning is to wet the packing, and to remove technical contaminants left behind during production and air from the pores. During conditioning, the column is always washed using a strong organic solvent first, and the weakest one is used last (aqueous solvent). It could be important for the pH of the solvent used last during conditioning to be identical to the pH of the sample solution. The solvent of the sample applied to the column also has to be as weak as possible, in order for the sorption of the components to take place on the stationary phase. However, care must be taken to ensure that the solvent of the sample dissolves the sample well, and components do not precipitate before transferring to the column. It is important that the flow of the sample through the column is slow, because the diffusion of the target components from the solvent onto the solid surface takes time. Matrix compounds are removed from beside components bound to the packing by washing the column (Figure 2). It is important here as well that the washing solution is a weak solvent, which does not initiate the elution of the analytes to be determined. Target components can be eluted, following the vacuum drying of the column, using a strong organic solvent (methanol, acetonitrile, ethyl acetate). The strength and pH of both the washing solution and the eluting solvent play important roles in sample purification.

During solid phase extraction, only some of the matrix components can be removed from the sample. Matrix compounds with physico-chemical properties similar to the physico-chemical properties of the target compound will adsorb, concentrate and elute together with the target components (Figure 2). These

matrix components are separated from the target compounds during the LC-MS/MS analysis.

The application of the so-called “dilute and shoot” method is common during LC-MS/MS measurements when determining target components with higher limit values (>100 $\mu\text{g}/\text{kg}$). In practice, this means that, following the extraction of the sample, the extract is only diluted and then injected into the instrument after filtration, with no sample purification (clean-up) step used. However, for this purpose, application of high sensitivity instruments is necessary, if the limit values for the target components are low (<1-10 $\mu\text{g}/\text{kg}$). The best solution is to combine the “dilute and shoot” method with isotope dilution because, in this case, the matrix effect can be compensated for by the isotopically labeled internal standard. In the case of liquid samples (e.g., urine, milk), solid-liquid extraction cannot be used, the sample cannot be separated from the extract, making the application of the “dilute and shoot” method harder. In addition, in the case of liquid food samples and bodily fluids, limit values can be one or two orders of magnitude lower, compared to limit values given for solid food samples, therefore, enrichment of liquid samples might be necessary during sample preparation.

3.3. Polymer-based mixed-mode SPE columns

The efficiency of solid phase extraction can be enhanced further if the packing of the SPE column contains not only the reverse phase, but also (strong or weak) ion exchange groups (Figure 3). SPE columns containing packing developed this way are called mixed-mode ones. When using mixed-mode SPE columns, minimal loss of target components during extraction is ensured by the high level of retention of copolymer SPE packings modified by hydrophilic side chains [5]. In addition to target compounds, the retention of matrix components on the SPE column also increases, which in turn increases the matrix effect in the LC-MS/MS analysis. Therefore, in the case of complex samples (e.g., bodily fluids), application of SPE providing adequate selectivity for the target compounds might be necessary.

Polymer-based mixed-mode strong anion exchange SPE columns (Mixed Anion eXchange - MAX) contain quaternary ammonium groups, in addition to the reverse phase. Not too polar neutral and basic target compounds are adsorbed on the reverse phase of the SPE column, while compounds of weakly acidic character are adsorbed on the anion exchange groups or the reverse phase, depending on the pH. Mixed-mode strong cation exchange SPE columns (MCX) contain benzenesulfonic acid groups. Neutral and acidic compounds are adsorbed on the reverse phase of the MCX column, while weakly basic compounds can be adsorbed on the ion exchange sulfonic acid groups or the reverse phase, depending on the pH.

3.4. Corticosteroids

Corticosteroids are antiinflammatory drugs used often and widely in veterinary medicine [6]. Active ingredients of the most frequently used synthetic corticosteroid-containing preparations are dexamethasone, prednisolone or methylprednisolone, and other derivatives of these (Table 1). Corticosteroids can be used legally to reduce inflammation, they have maximum residue levels (MRL) in foods of animal origin [7], [8]. However, because of their bulking effect, their excessive use is prohibited, and the urine of food animals is not allowed to contain synthetic corticosteroid residues. In food analysis, their determination is mainly performed in urine samples coming from slaughterhouses or from live animals. For urine samples, concentration values that the given analytical method must be able to detect, the so-called MRPL levels (Minimum Required Performance Limit) have been identified by the EU. Among corticosteroids, only dexamethasone (DXM) and betamethasone (BTM) have an MRPL value, which is currently 2 ng/mL [9].

Corticosteroids are neutral compounds, but at high pH (>13) dissociation of the hydroxyl group(s) on the steroid skeleton begins, resulting in a very weak acidic character for corticosteroids. From a chromatographic point of view, corticosteroids can be classified as neutral compounds of medium polarity (Log P = 0,32 – 2,31) (Table 1). During reverse phase liquid chromatographic analysis, on completely porous, shell structure columns, they can be separated with adequate retention and peak symmetry. During mass spectrometric (MS) detection, they give rise to precursor ions both in positive and negative ionization modes (Figure 4), and can also be ionized with high efficiency using electrospray (ESI) and atmospheric pressure chemical ionization (APCI) ion sources. In positive mode, they can be measured as protonated molecule ions ($[\text{M}+\text{H}]^+$), while in the case of negative polarization, they can be detected as formate ($[\text{M}+\text{HCOO}]^-$) or acetate ($[\text{M}+\text{CH}_3\text{COO}]^-$) adduct parent ions, depending on the composition of the mobile phase [5], [10], [11], [12], [13]. Figure 4 shows the ion transitions of prednisolone in positive and negative ionization modes, with an eluent composition of acetonitrile – water containing 0.1% formic acid (v/v). Changing the polarization mode provides an opportunity to increase selectivity. The matrix compound eluting at 5.9 minutes only appears in the chromatogram in negative ionization mode. However, the sensitivity of the positive ionization is an order of magnitude lower, compared to negative ionization. Changing the polarization mode provides an opportunity to differentiate between screening and confirmation methods. While in the case of screening, corticosteroids are detected in positive mode, negative ionization can be used in the case of confirmation [13].

3.5. Stanozolol metabolites

Stanozolol is a synthetic steroid, belonging to the group of illegal yield enhancers. In the body, stanozolol metabolizes rapidly. Its main metabolites are 16-hydroxystanozolol (16-OH-STN), 3'-hydroxystanozolol (3'-OH-STN) and 4-hydroxystanozolol (4-OH-STN) (Figure 5), which can be detected in urine [14], [15]. Stanozolol metabolites are weakly basic compounds (pKa 3.05 – 5.35), they can be measured with high sensitivity after reverse phase LC separation, using positive mode ESI ionization [15].

3.6. Matrix effect

Matrix components co-eluting with target compounds influence the ionization of the latter in the ion source. Ionization of the analytes can be suppressed or, in certain cases enhanced by matrix compounds. Ion suppression can also be caused not only by matrix components, but also by co-eluting target compounds. The direction (suppression/enhancement) and size (%) of the effect of matrix components on the ionization of a given target compound can be determined by analyzing the absolute matrix effect [3]. The absolute matrix effect (ME%) can be calculated easily by comparing the slopes of the matrix matched and no matrix (pure solvent) calibrations. $\text{ME} (\%) = (a_{\text{matrix}}/a_{\text{oldoszer}} - 1) \times 100$, where a_{matrix} is the slope of the matrix matched calibration and a_{oldoszer} is the slope of the calibration with no matrix. While $\text{ME} (\%) < 0$ indicates ion suppression, $\text{ME} (\%) > 0$ means ion enhancement. The reproducibility of the absolute matrix effect provides the value of the relative matrix effect [3]. The relative matrix effect can be calculated from the standard deviation of the slopes of matrix matched calibrations. In this case, the slopes of the calibrations recorded from 5 identical samples of different origin have to be determined. For example, 5 calibrations have to be prepared from urine samples coming from 5 different cows, by spiking the extracts of blank urines to given concentration levels, and recording the five calibrations from these samples. The value of the relative matrix effect is given by the relative standard deviation (RSD%) of the slopes of the calibrations [3]. The relative matrix effect at a given concentration level can also be determined, for example, at the limit value of the target component. In this case, extracts of the blanks (five different cow urine samples) are spiked to the appropriate concentration after sample preparation.

Samples are analyzed, and the value of the relative matrix effect at the concentration level in question is given as the relative standard deviation (RSD%) of the chromatographic peak areas. Analyzing the reproducibility of the matrix effect is important, because the matrix effect in the test samples is compensated during the measurements by the matrix matched calibration. If the matrix effect is reproducible, then the matrix effect on the target components will be almost the same in the test sample and the calibration sample, and so it will be easy to compensate for the matrix effect well.

To compensate for the matrix effect, isotope dilution can be used. In this case, the test sample is spiked with the analogue of the target compound, labelled with stable isotopes, as an internal standard (ISTD). Because of the co-elution of the target component and the ISTD, the effect of the matrix on the unlabeled compound and the labeled analogue, so the ratio of their responses (their chromatographic peak areas), the isotope ratio will be independent of the matrix effect.

4. Preparation of urine samples for LC-MS/MS analysis

During the analysis of urine samples, one should always count on the presence of weakly acidic (pKa 3-7) matrix components, which have a major effect on the outcome of the analysis [12]. Utilizing the proton function of weakly acidic matrices, their separation from neutral and basic compounds can be achieved on strong anion exchange SPE columns.

4.1. Corticosteroids

Weakly acidic matrices can be separated from neutral corticosteroids easily, using mixed-mode strong anion exchange SPE columns and alkaline pH control [12]. At alkaline pH, weakly acidic components bind to the quaternary ammonium groups of the mixed-mode strong anion exchange (MAX) SPE column through ionic interactions, while neutral target compounds are adsorbed on the reverse phase of the SPE column. Using neutral elution (e.g., acetonitrile or dichloromethane), acidic compounds will still bind to the SPE column through ionic interactions, while neutral corticosteroids will elute, and so a selective extraction step can be achieved. Removal of weakly acidic matrices is important, because sensitive parent ions are obtained from corticosteroids as acetate [M+CH₃COO]⁻ or formate [M+HCOO]⁻ adducts in negative ionization mode. Weakly acidic matrix components are also ionized well in negative ionization mode, so they can cause the ion suppression of corticosteroids in the case of co-elution.

Proper selection of the pH during solid phase extraction is very important, because if weakly acidic matrix components are not present in the completely dissociated state, then they will be adsorbed on the reverse phase of the SPE column, and then will co-elute with target compounds.

Table 2 shows the repeatability of the matrix effect during the analysis of corticosteroids by LC-MS/MS in urine samples after SPE purification at different pH values [12]. Six different blank samples from cow urine were prepared on mixed-mode strong anion exchange SPE columns. Sample purification was performed at two different pH values. In the first round, the six urine samples were prepared at pH 5.2, then new aliquots of the same six urine samples were purified at an alkaline pH (9-9.5). Fol-

lowing aqueous washing, samples were eluted from the SPE column using pure acetonitrile, and then dichloromethane. After evaporation to dryness, samples were redissolved in 50% methanol and spiked to a 2 ng/mL concentration level using 6 corticosteroid components. When analyzing the samples using an LC-MS/MS method, peak areas were compared component by component. The matrix effect was evaluated as the relative standard deviation of the chromatographic peak areas at the 2 ng/mL concentration level. **Table 2** clearly shows that at an acidic pH the repeatability of the matrix effect is low (21% - 43.1%), while at an alkaline pH the repeatability is significantly better (2.8% - 5.7%). This can be explained by the fact that at the acidic pH of 5.2 weakly acidic components are unable to bind selectively to ion exchange groups through ionic interactions, and so they are concentrated on the reverse phase, together with the corticosteroids.

On the other hand, at an alkaline pH selective extraction worked well, because weakly acidic matrix components were bound to the packing of the SPE column in the completely dissociated state through ionic interactions. By using neutral elution, only components adsorbed on the reverse phase were eluted, so the separation of weakly acidic matrix components from neutral corticosteroids could be achieved by this step [12].

The optimized method was used in international proficiency testing for the determination of methylprednisolone (METPRED) and methylprednisone (METPREDON) in cow urine. The task was to determine methylprednisolone and its metabolite, methylprednisone in four urine samples (**A**, **B**, **C** and **D**). In samples **A** and **B** only methylprednisolone could be measured in concentrations of 0.12 to 0.67 ng/mL. Sample **C** was the blank (<0.05 ng/mL), while in sample **D** methylprednisone could be detected in a concentration of 0.84 ng/mL. Sample **D** also contained methylprednisolone, but its evaluation was not requested by the organizing laboratory (EU-RL Rikilt, Wageningen, Hollandia). The detected concentrations below X,XX ng/mL were adequate for all four samples (**Table 3**), and so the applicability of the method was fully confirmed [12]. Results of the proficiency testing were considered adequate if the individual Z values were in the -2 - +2 range.

4.2. Stanozolol metabolites

Stanozolol metabolites (**Figure 5**) are weakly basic compounds (pKa 3.05 - 5.35), and so at an acidic pH (pH < pKa - 2) they bind strongly to the sulfonic acid groups of the mixed-mode cation exchange SPE column (MCX) through ionic interactions. Adjusting the pH of the sample to 1, selective extraction of the metabolites can be performed easily on a mixed-mode cation exchange SPE column. Acidic and neutral matrix components are adsorbed on the reverse face surface of the MCX SPE column, and

can be separated from basic target compounds by washing with a neutral organic solvent. Application of pH values above 1 is not possible, because in a less acidic medium selective binding of the metabolites to the cation exchange groups of the SPE column could not be achieved, since they would only be partially ionized. Metabolites can be eluted from the cation exchange SPE column using a basic organic solvent (methanol or acetonitrile containing ammonia). Relevant recoveries in the urine matrix ranged from 10% to 71% [15]. The reason for low recovery is that at pH 1 all of the basic matrix compounds in the sample are bound to the cation exchange groups, and so basic matrix components are concentrated on the cation exchange groups together with the metabolites. On the one hand, basic matrix compounds interfere with the binding of the metabolites to the sulfonic acid groups at low pH, and on the other hand, in the case of co-elution during HPLC separation, they influence the ionization of the metabolites, which can result in low recovery values.

By using a mixed-mode strong anion exchanger (MAX), at pH 10 metabolites are adsorbed on the reverse phase, while acidic matrix components again on the ion exchange groups through ionic interactions. Depending on their polarities, basic matrix components can bind to the reverse phase surface, and their retention is lower than on the MCX column at acidic pH. Recoveries of the metabolites in urine samples after diethyl ether elution range from 78% to 97% [15]. Even though stanozolol metabolites are basic compounds, the purification and enrichment method using a MAX SPE column proved to be better than using an MCX column.

The applicability of the method was confirmed by the analysis of control samples. In our experiments, the main metabolite, 16-OH-STN had to be determined in the urine of cows treated with stanozolol (2 samples). Detected concentration were 0.99 ng/mL and 2.83 ng/mL. Values assigned to the samples were 0.90 ± 0.53 ng/mL and 2.20 ± 1.22 ng/mL. The accuracy of the method is also satisfactory when analyzing urine samples coming from treated animals [15].

5. Preparation of milk samples for LC-MS/MS analysis

During the analysis of milk samples, one should count on the presence of matrix components susceptible to protonation. These are mainly zwitterionic compounds: amino acids, peptides and proteins. Thus, the use of both acidic and alkaline pH control have to be examined, and the mixed-mode SPA column to be used in the method has to be chosen accordingly. When determining corticosteroids in milk, mixed-mode strong anion exchange and mixed-mode strong cation exchange SPE columns were tested at different pH values. On the MAX column, spiked (0.3 - 6 µg/kg) milk samples (n = 3) were purified at pH 11. On the MCX column, we worked at a pH ad-

justed to 2.3. When eluting the samples with acetone, recoveries (**Figure 6**) obtained on the MCX column were in the range of 94% to 113%, which are higher than the recovery data detected after sample preparation on the MAX SPE column (56% - 73%) [16]. Purification on the MCX column was also tried using other eluents. When eluting the samples with dichloromethane (DCM), recoveries for the steroids were in the range of 43% to 97%. When acetonitrile and dichloromethane (ACN + DCM) were used for elution, recoveries improved somewhat, they were between 58% and 89% (**Figure 7**, but recovery values obtained with acetone elution were not duplicated [16]. This example shows clearly that to achieve adequate performance characteristics, the selection of eluent is important in the case of mixed-mode SPE columns as well. After a pH-optimized SPE, the matrix effect was significantly reduced during the LC-MS/MS analysis, making high enrichment of milk samples possible, as well as the reduction of the limits of detection (LOD) to ng/kg levels (**Table 4**). Even lower LOD values could be obtained (1 - 6 ng/kg) when using a modified ESI ion source, compared to the LODs obtained using a multimode (MMI) ion source in APCI mode (20-70 ng/kg) [16].

6. Preparation of animal tissue samples for LC-MS/MS analysis

The retention of polymer-based SPE columns for corticosteroids were clearly demonstrated by the above methods. Therefore, in the case of tissue samples (bovine muscle, liver and kidney), during SPE optimization, the emphasis was placed only on the examination of the matrix effect, because the tissue matrix is significantly different from the samples analyzed earlier (milk, urine). Tissue samples were extracted at three different pH values (acidic, neutral and alkaline), maintaining the pH control during the solid liquid extraction as well. After acidic (i) extraction, samples were prepared on an MCX SPE column at pH 2.3. The copolymer SPE column was used at a neutral (ii) pH of 7, while at the alkaline (iii) pH of 11, the MAX SPE column was tried [17]. In the case of acidic pH control, the value for the absolute matrix effect for corticosteroids in the case of the three tissue samples ranged from -30.2% to +15.0%. The value of the relative matrix effect was between 0.7% and 10.7%. When performing sample preparation at pH 7, the extent of ion suppression (-68.4% and -18.5%) was larger (especially in the case of muscle samples) than at the acidic pH. The reproducibility of the matrix effect was also lower (4.0% and 11.2%), compared to the MCX SPE sample preparation. This is due to the fact that the copolymer SPE packing does not have the required selectivity, guaranteed by the mixed-mode MCX SPE packing at the acidic pH [17]. In order to ascertain the role of the pH in sample preparation completely, the matrix effect was also evaluated with alkaline pH control in all 3 tissue samples. After using the MAX SPE column, the value of the absolute matrix effect was between -44.4%

and -4.1%. The reproducibility of the matrix effect varied between 6.5% and 12.9%. For all three tissue types, application of either the mixed-mode MCX, or the MAX SPE column was preferred, compared to the hydrophilic modified copolymer SPE column. In the case of muscle samples, the smallest matrix effect was obtained using the MCX SPE column, while in the case of kidney samples, the use of the MAX SPE column proved to be advantageous. There was no significant difference between the MCX and MAX SPE columns in terms of matrix effect in the case of liver samples [17]. Our experience also clearly shows how the matrix effect of the LC-MS/MS analysis varies in the case of different tissue samples.

Another advantage of the method is the separation from each other of the corticosteroid epimers dexamethasone (DXM) and betamethasone (BTM). The two epimers differ in terms of the spatial position of the methyl group on C-16 of the steroid skeleton (Table 1), and so application of an HPLC column of adequate selectivity is necessary for their baseline separation. As large a chromatographic resolution between the two epimers is important because the ion transitions of DXM and BTM are the same, and so the MS/MS detector is unable to detect the two corticosteroids on separate mass channels. A selectivity factor of 1.05 can be achieved between the two epimers using isocratic separation, with a mobile phase of methanol/(5 mM ammonium acetate) and 0.01% acetic acid in water (50/50, pH 5.4), using a shell structure phenylhexyl column (Figure 8) [17].

A control sample was also analyzed using the LC-MS/MS method developed according to the above description, to verify the accuracy of the method. As a natural contaminant, the sample contained dexamethasone. The detected dexamethasone concentrations were 1.63 µg/kg, 1.58 µg/kg and 2.18 µg/kg as the results of three independent analyses. The average value was 1.78 ± 0.35 µg/kg. According to the certificate of the control sample, concentrations are acceptable in the range of 0.85 to 5.97 µg/kg, so the accuracy of the method was confirmed using a sample coming from a treated animal [17].

7. Mixed-mode vs. hydrophilic modified copolymer SPE

In our previous examples, target compounds to be determined simultaneously belonged to the same group from a chromatographic point of view. All corticosteroids are very weakly acidic, rather neutral compounds. Stanazolol metabolites are of weakly basic character. When neutral components and compounds susceptible to protonation have to be determined together (e.g.: *Alternaria* toxins), it is possible that the selectivity provided by mixed-mode SPE cannot be exploited. *Alternaria* toxins are weakly acidic compounds, with the exception of tentoxin, the molecule of which is neutral. Thus, on mixed-mode anion exchange SPE columns, tentoxin is unable to bind to

the anion exchange groups. On mixed-mode cation exchangers, at an acidic pH, toxins are adsorbed on the reverse phase surface, and matrices of a basic nature can be easily removed from the sample. Nevertheless, even after purification on the MCX SPE column packing, toxins are subject to high matrix effects during the LC-MS/MS measurement, which indicates that ion suppression of *Alternaria* toxins in the ion source is caused by neutral or weakly acidic matrix components [18]. In this case, when compounds with different physico-chemical properties (acidic and neutral) need to be determined simultaneously, advantages of mixed-mode SPE column packings cannot be exploited and, instead, utilization of hydrophilic modified SPE packings is most suitable.

8. Conclusions

The reliability of methods based on the LC-MS/MS technique depends significantly on the method of sample preparation. The goal of the purification steps is to minimize the concentrations of matrix components that co-elute with the target compounds, but which are invisible to the detector. During traditional reverse phase solid phase extraction, matrix components having the same polarity as the target compounds are concentrated together with the analytes. If the satisfactory resolution between matrix components and target compounds cannot be achieved by the liquid chromatographic separation, then it can be assumed that the ionization of the analyte in the ion source may be influenced by the matrix. Therefore, the application of SPE columns might be necessary, which provide selective binding sites for the target compounds and matrix components both. Through their ion exchange groups, mixed-mode SPE columns make extensive purification of even the most complex samples (e.g., urine) possible, while minimizing the loss of target compounds.

9. References

- [1] Az alapjogok általános kérdései. http://www.wesley.hu/files/Az_alapjogok_altalanos_kerdesei.doc (Acquired: 12. 04. 2016.)
- [2] Vidékfejlesztési Minisztérium- 10/2002. (I.23.) FVM rendelete. <http://www.fvm.hu/main.php?folderID=1978&articleID=4623&ctag=articlelist&iid=1> (Acquired: 12. 04. 2016.)
- [3] Matuszewski, B.K., Constanzer, M.L., Chavez-Eng, C.M. (2003): Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS, *Anal. Chem.* 75. p. 3019–3030
- [4] Tölgyesi, Á., Sharma, V.K., Fekete, S., Fekete, J., Simon, A., Farkas, S. (2012): Development of a rapid method for the determination and confirmation of nitroimidazoles in six matrices by fast liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 64-65. p. 40-48

- [5] Tölgyesi, Á., Verebey, Z., Sharma, V. K., Kovacsics, L., Fekete, J. (2010): Simultaneous determination of corticosteroids, androgens, and progesterone in river water by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Chemosphere* 78. p. 972-979
- [6] Törzskönyvezett állatgyógyászati szerek. http://www.nebih.gov.hu/szakteruletek/szakteruletek/allatgyogyaszati_igazgatosag/kozerdeku/torzskonyvezes/forgalmazhato/nemzeti (Acquired: 14. 04. 2016.)
- [7] Commission Regulation (EU) 37/2010, Off. J. EU. Legis (2010) L 15/1.
- [8] Opinion of the Committee for Medicinal Products for Veterinary Use on the establishment of maximum residue limits. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum-residue-limit_opinion/2012/03/WC500124459.pdf (Acquired: 14. 04. 2016.)
- [9] CRL Guidance Paper: CRLs view on State of the art analytical methods for national residue control plans, RIVM-NL (2007). http://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/09_Untersuchungen/EURL_Empfehlungen_Konzentrationsauswahl_Methodenvalidierung.pdf?blob=publicationFile (Acquired: 11. 04. 2016.)
- [10] CRL RIVM The Netherlands, Analysis of corticosteroids in bovine urine using LC-MS/MS. (2009) http://www.rivm.nl/bibliotheek/digitaaldepot/SOP%20ARO_517.pdf (Acquired: 13. 04. 2016.)
- [11] Andersen, J. H., Hansen, L.G., Pedersen, M. (2008): Optimization of solid phase extraction clean up and validation of quantitative determination of corticosteroids in urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 617. p. 216-224
- [12] Tölgyesi, Á., Kovacsics, L., Sharma, V.K., Fekete, J. (2010): Quantification of corticos-

teroids in bovine urine using selective solid phase extraction and reversed-phase liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B* 878. p. 1471-1479

- [13] Tölgyesi, Á., Bartha, E., Giri, A., Simon, A., Sharma, V.K. (2017): Determination of veterinary drugs in urine, blood and food matrices using simplified liquid extraction and solid phase extraction: liquid chromatography tandem mass spectrometric methods for screening and confirmation. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, *Közlemény készítés alatt.*
- [14] De Brabander, H.F. et al. (1998): Multilaboratory study of the analysis and kinetics of stanozolol and its metabolites in treated calves. *Analyst* 123. p. 2599–2604
- [15] Tölgyesi, Á., Sharma, V.K., Fekete, J. (2014): Confirmatory analysis of stanozolol metabolites in bovine, pig and sheep urines using an optimized clean-up and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 88. p. 45–52
- [16] Tölgyesi, Á., Tölgyesi, L., Sharma, V.K., Sohn, M., Fekete, J. (2010) : Quantitative determination of corticosteroids in bovine milk using mixed-mode polymeric strong cation exchange solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 53. p. 919-928
- [17] Tölgyesi, Á., Sharma, V.K., Fekete, S., Lukonics, D., Fekete, J. (2012) : Simultaneous determination of eight corticosteroids in bovine tissues using liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B* 906. p. 75-84
- [18] Tölgyesi, Á., Stroka, J., Tamosiunas, V., Zwickel, T. (2015): Simultaneous analysis of *Alternaria* toxins and citrinin in tomato: an optimized method using liquid chromatography – tandem mass spectrometry. *Food Addit. Contam.* 32. p. 1512-1522.



A kép illusztráció / Picture is for illustration only
Fotó/Photo: Tolokán Adrienn

Ambrus Árpád¹, Kamirán Áron Hamow², Kötelesné Suszter Gabriella³,
Németh Anikó³, Solymosné Majzik Etelka²

Érkezett: 2016. augusztus – Elfogadva: 2016. december

Az analitikai standard oldatok pontosságára és a névleges koncentrációjuk bizonytalanságára

Kulcsszavak: standard, minőségbiztosítás, peszticid, kalibráció

1. Összefoglalás

Az analitikai standard oldatok pontossága a növényvédő szermaradék, de minden más kémiai szennyező mérési eredményét a vizsgálat utolsó lépésében döntően befolyásolja, és a minta komponenseinek meghatározása során a névlegestől eltérő aktuális koncentráció tekintetében folyamatosan szisztematikus hibát eredményez. A legtöbb, eredményeiért felelősséget érző laboratórium ezért különös figyelmet fordít a standard oldatok elkészítésére és tárolására, illetve az oldószer esetleges elpárolgásából adódó veszteség pótlására a standard oldatokat tároló eszközök tömegének használat utáni és használat előtti mérése alapján. Tapasztalataink szerint azonban a gyakorlati munkában a szükségesnél sokkal kisebb figyelmet fordítanak az egyes hatóanyagok esetleges bomlásának ellenőrzésére, illetve nem a megfelelő statisztikai módszert alkalmazzák az ellenőrzési eredmények értékelésére. Cikkünkben bemutatjuk két, „jó analitikai gyakorlatot” alkalmazó laboratórium standard készítési módszereit, elemezzük az egyes lépések bizonytalanságát és javaslatot teszünk a legpontosabb standard oldatok elkészítési módjára.

2. Bevezetés

Az Európai Unió tagországi hatósági, illetve nemzeti referencia laboratóriumainak kötelező részt venni a releváns körméréseken (un. proficiency tests). A résztvevő laboratóriumok teljesítményének értékelésére alkalmazott szempontok alapján elért nem megfelelő eredmények okainak feltárára, az Európai Unió gyümölcsben és zöldségben előforduló szermaradékok vizsgálatát segítő referencia Laboratóriuma (European Union Reference Laboratory for Pesticide Residues in Fruit & Vegetables) körvizsgálatot szervezett (EU-RT-FV17). A tesztminta 11 ellenőrzött koncentrációjú növényvédőszer-hatóanyagot tartalmazott tiszta oldószerben (**1. táblázat**). A körvizsgálatba elsősorban a nem megfelelő eredményt jelentő laboratóriumokat vonták be, de minden érdeklődő laboratórium számára biztosították a részvételt (Carmen Ferrer Amate, Universidad De Almería-Edificio de Química, személyes közlemény). Vizsgálati eredményét 36 laboratórium közölte, de esetenként a standardkeverék nem minden komponensére. A vizsgálati eredmények hivatalos értékelése még nem

jelent meg, ezért csak a releváns részeredményeket közöljük az **1. táblázatban**.

Az eredmények azt tükrözik, hogy az uniós hatósági és referencia laboratóriumai közül 17-23 vizsgáló szervezet a maximálisan elfogadható eltérésnél (<10%) [1] nagyobb hibával tudta meghatározni a tesztminta 11 hatóanyag koncentrációját. Ha a relatív különbségeket nézzük, akkor a helyzet még sokkal kritikusabb, mivel a ≤ 50% relatív hibával mérő laboratóriumok a vizsgált minta tényleges szermaradék koncentrációjánál legalább kétszer magasabb szermaradékot fognak mérni és a tételt hibásan fogják nem megfelelőnek minősíteni. A >+ 100% relatív standard hiba esetén viszont a tényleges szermaradék koncentráció ≤50%-át fogják mérni és jelenteni, mely a határértéket meghaladó szermaradékot tartalmazó tételek forgalomba kerülését teszi lehetővé. A fals „megfelelő” eredmény ennél fogva élelmiszerbiztonsági kockázatot is jelent.

A standard oldatok pontosságának fontosságára tekintettel megvizsgáltuk az európai körmérésekben (proficiency test) kiválóan és jól szereplő [2], két ma-

¹ Nyugalmazott tudományos főtanácsadó; Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal

² Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal, Növényvédőszer-maradék Analitikai Laboratórium Velence

³ WESSLING Hungary Kft.

gyar laboratórium részleteiben eltérő standard készítési módszereinek a pontosságát és az elkészült standard keverékek névleges koncentrációjának a bizonytalanságát. Jelen közleményünkben bemutatjuk a standard oldatok készítésének módozatait azok reprodukálhatóságát, az oldatok illetve sok-komponensű standard keverékek készítésénél alkalmazott eszközök hatását az elkészített oldatkomponensek koncentrációjának a pontosságára és a névleges koncentráció bizonytalanságára. A standard oldatok komponensei tényleges koncentrációja és a referencia standard oldat koncentrációja közti különbség meghatározására alkalmazható statisztikai módszert külön közleményben tesszük közzé [3].

3. Az analitikai standardok készítésére alkalmazott módszerek

A felhasznált eszközök használata a tesztek végző laboratóriumokban hasonló módon történik. Az eljárást csak az első alkalommal részletezzük. A laboratóriumok az eszközök tisztítására kidolgozott módszer hatékonyságát előzetesen ellenőrzik. Az analitikai standardokat ISO 9001 minősítésű előállítótól vásárolják, akik a standardok tisztaságát tételesen ellenőrzik és igazolják.

1. táblázat. A EU-RT-EV17 körvizsgálat összefoglaló eredménye
Table 1 Summary results of ring test EU-RT-EV17

	Bupirimate	Carbendazim	Diazinon	Difenoconazole	Diflubenzuron	Methoxyfenozide	Pendimethalin	Permethrin	Spinosad	Thiabendazol	Trifloxystrobin
Certified conc. mg/L	5.00	5.00	5.04	18.99	18.96	14.95	4.97	15.05	15.03	19.04	19.00
No. Lab	33	31	36	34	25	30	35	32	30	32	33
Accurate	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Rel dif. % Min	-74.2	-86.6	-41.5	-43.7	-40.9	-51.5	-59.8	-54.1	-36.1	-32.5	-36.0
Rel dif. % Max	40.0	164.0	201.6	36.9	129.1	107.4	28.0	73.4	91.0	115.9	117.9
No \geq 10%	17	23	18	19	16	18	19	23	19	16	19

Megjegyzések:

No. Lab: A 36 résztvevő laboratórium közül a jelzett hatóanyagot vizsgálók száma

Accurate: A tesztmintában szereplő komponens koncentrációjával azonos értéket jelentő laborok száma

Rel. dif. %: a relatív különbség = $100 \times (\text{jelentett koncentráció} - \text{tényleges koncentráció}) / \text{tényleges koncentráció}$

No \geq 10%: A standard oldatok elfogadható koncentráció eltérését (<10%) [1] meghaladó relatív különbségű eredményt jelentő laboratóriumok száma.

Notes:

No. Lab: Number of the 36 participating laboratories analyzing the indicated active ingredient

Accurate: Number of laboratories reporting a value identical to the concentration of the component in the test sample

Rel. dif. %: relative difference = $100 \times (\text{reported concentration} - \text{actual concentration}) / \text{actual concentration}$

No. \geq 10%: Number of laboratories reporting results with relative differences exceeding the acceptable concentration difference (<10%) [1] of standard solutions.

2. táblázat. Különböző koncentrációjú standard oldatok tipikus tárolási ideje
Table 2 Typical storage times of standard solutions of different concentrations

Koncentráció / Concentration	Tárolási idő / Storage time
200-1000 $\mu\text{g/ml}$	2 év / 2 years
10-200 $\mu\text{g/ml}$	1 vagy 0,5 ¹ év / 1 year or 0.51 year
1-10 $\mu\text{g/ml}$	6 hónap / 6 months
<1 $\mu\text{g/ml}$	1 hét / 1 week
Klórozott szénhidrogének esetében / For chlorinated hydrocarbons	
1-10 $\mu\text{g/ml}$	1 év / 1 year
<1 $\mu\text{g/ml}$	3 hónap / 3 months

Megjegyzés:

¹: bomlékony komponens tartalmazó keverékeknél

Note:

1: for mixes containing components prone to decomposition

3.1. 'A' laboratórium

A mérőlombikok A-minősítésűek, a centrifugacsöveket az üvegtechnikus milliliterenként 0,1% pontossággal kalibrálta.

A.1: 1 mg/ml koncentrációjú törzsoldat

A mélyhűtőben <-20 °C hőmérsékleten tartott analitikai standardot aktivált szilikagél felett exikátorban szobahőfokra melegítjük, tisztaságának figyelembe vételével naponta kalibrált Mettler AX 205-DR típusú analitikai mérlegen 25 mg-ot mérünk ki 0,01 mg pontossággal 25 ml-es főzőpohárba. A bemért standardot 5 ml acetonnal, vagy más megfelelő oldószerben, oldjuk és 25 ml-es A-kategóriájú mérőlombikba (V_{25}) öntjük. A főzőpoharat 3x5 ml acetonnal átmoszuk és a mérőlombikba öntjük és ha szükséges a tökéletes oldódást ultrahangos fürdőbe helyezéssel biztosítjuk.

A mérőlombikot Pasteur pipettával jelre töltjük, felcímkézzük, megmérjük és a standard naplóban feljegyezzük a kész törzsoldat kódját, tömegét, a felhasznált szilárd standard azonosítóját, tisztaságát, bemért tömegét, a kész törzsoldat koncentrációját, a felhasznált oldószert és a kész törzsoldat végtérfogatát és tömegét, a készítés és lejárat dátumát és a készítő munkatárs rövidített aláírását, szignóját. További felhasználásig az oldatot 7°C alatti hőmérsékleten hűtőben tároljuk.

A 2. táblázatban foglaltuk össze a szokásos tárolási időket, megjegyezve, hogy tapasztalataink alapján a bomlékonyabb komponenseket ennél rövidebb idővel tároljuk.

A.2. 10 $\mu\text{g/ml}$ maximum 100 komponensű standard keverék készítése acetonnal

A hűtőből elővett törzsoldatok tömegét ellenőrizzük, miután hőmérsékletük elérte a szobahőmérsékletet. Amennyiben a párolgásból adódóan tömegeltérés tapasztalható, abban az esetben az utoljára naplóban feljegyzett tömegre állítjuk vissza a törzsoldatot acetonnal. Az 1 mg/ml koncentrációjú törzsoldatokból 500 μl -es Hamilton-fecskendővel (H_{500}) 250 μl -t V_{25} lombikba visszük át. A fecskendőt használat előtt legalább 3-5-ször, a bemérést követően 5-7-szer acetonnal átmoszuk. A törzsoldatok bemérése után a lombikot Pasteur pipettával jelre töltjük, összerázzuk, címkével látjuk el, és a tömegét megmérjük, feljegyezzük.

A.3. 10 $\mu\text{g/ml}$ -es néhány komponensű standard oldatok

Eseti vizsgálathoz szükséges standard keveréket az A.2 eljárással készítjük, de a törzsol-

datból a H_{250} fecskendővel 100 μl -t mérünk be egy 10 ml-es csavaros tetejű kalibrált centrifugacsőbe (T_{10}).

A.4. 20 $\mu\text{g/ml} \leq 50$ komponensű standard oldat készítése

A hűtőből kivett egyes törzsoldatokból (A.1) szobahőmérsékletű tömegük ellenőrzése után 1000 μl -es Hamilton fecskendővel (H_{1000}) 1ml-t 50ml-es mérőlombikba (V_{50}) mérünk. A standardok kimérése után a lombik térfogatát Pasteur pipettával jelre állítjuk, összerázzuk felcímkézzük, tömegét lemérjük, feljegyezzük. A 20 $\mu\text{g/ml}$ koncentrációjú, ún. sub-mixekből készítjük a több száz komponensű standard oldatot.

A.5. 5 $\mu\text{g/ml}$ 350 komponensű standard oldat készítése

Az A.4 eljárás szerint készített 7 db sub-mixből H_{1000} fecskendővel 1000-1000 μl -t 8 ml-es kalibrált csavaros tetejű centrifuga csőbe (T_8) mérünk. Gyenge levegőárammal <1 ml térfogatra koncentrálnak, majd a 7x1000 μl bemérést megismételjük. Az oldat térfogatát Pasteur pipettával jelre állítjuk. Az így készített standard keverék névleges koncentrációja 5 $\mu\text{g/ml}$. Ezt a standardkeveréket három hónapig használjuk például a 0,1 mg/kg szintű visszanyerési vizsgálatokhoz.

A.6. 1 $\mu\text{g/ml}$: A 10 $\mu\text{g/ml}$ -es oldatból H_{1000} fecskendővel 1000 μl -t 10 ml-es centrifugacsőben jelig töltünk.

Kalibrációs sorok készítése oldószerváltással 1 $\mu\text{g/ml}$ acetonos oldatból

A.7. 0,1 $\mu\text{g/ml}$: H_{250} fecskendővel 200 μl -t 10 ml-es centrifugacsőbe viszünk, gyenge levegőárammal lefűjjük, vagy hagyjuk elpárologni, majd folyadékkromatográfiás eluenssel 2 ml jelig töltjük.

A.8. 0,05 $\mu\text{g/ml}$: H_{250} -es fecskendővel 100 μl -t veszünk ki és A7-hez hasonlóan 2 ml majd folyadékkromatográfiás eluenssel váltjuk.

A.9. 0,01 $\mu\text{g/ml}$: 25 ml-es Hamilton fecskendővel (H_{25}) 20 μl -t kiveszünk és 2 ml folyadékkromatográfiás eluenssel váltjuk.

A.10. 0,005 $\mu\text{g/ml}$: H_{25} -ös fecskendővel 20 μl -t kiveszünk és 4 ml folyadékkromatográfiás eluenssel váltjuk.

Kalibrációs sorok készítése oldószerváltás nélkül 10 $\mu\text{g/ml}$ acetonos oldatból

- A.11** 0,1 µg/ml: a 10 µg/ml standard oldatból H_{25} -tel 20 µl-t kiveszünk és folyadékkromatográfiás eluenssel azonnal a 2 ml-es jelig töltjük.
- A.12** 0,05 µg/ml: a 10 µg/ml standard oldatból H_{25} -tel 10 µl-t kiveszünk és folyadékkromatográfiás eluenssel azonnal a 2 ml-es jelig töltjük.
- A.13** 0,01 µg/ml: az 1 µg/ml standard oldatból H_{25} -tel 20 µl-t kiveszünk és folyadékkromatográfiás eluenssel azonnal a 2 ml-es jelig töltjük.
- A.14** 0,005 µg/ml: az 1 µg/ml standard oldatból H_{25} -tel 10 µl-t kiveszünk és folyadékkromatográfiás eluenssel azonnal a 2 ml-es jelig töltjük.

Megjegyzések:

- 10-µl-nél kisebb térfogatú oldatot nem ajánlott kivenni. Ha más koncentrációkat szeretnénk készíteni, a használandó Hamilton fecskendőt a kimérendő térfogatnak megfelelően választjuk ki.
- Ha oldószerváltás nélkül más koncentrációra van szükségünk, akkor ügyelnünk kell arra, hogy legfeljebb 50 µl acetont maradjon lefújás nélkül a 2 ml térfogatú folyadékkromatográfiás eluensben (a folyadékkromatográfiás eluens legfeljebb 2,5%-nyi acetont tartalmaz).
- A kalibrációs pontok száma: szűrővizsgálatoknál ≥ 3 ; mennyiségi konfirmálásnál, validálásnál ≥ 5 legyen.

3.2. 'B' laboratórium

Általános gyakorlat:

Az exszikkátorban aktív szilikagél felett szobahőmérsékletre melegedett analitikai standardot $A \pm 0,04$ pontosságú mérőlombikokba mérjük, amiket előzőleg mosunk, acetonnal átöblítünk, szárítószekrényben szárítunk, majd exszikkátorban 2 napig tárolunk. A pontosan bemérendő tömeget ($\pm 0,01$ mg) az anyag tisztaságának figyelembe vételével határozzuk meg, majd naponta kalibrált analitikai mérlegen bemérjük. A méréseknél, szilárd standard esetében, egyszer használható műanyag spatulát, folyékony anyag esetében automata pipettát alkalmazunk.

3. táblázat. Az analitikai mérlegek jellemző paramétereit és a mérés bizonytalansága
Table 3 Characteristic parameters of analytical balances and the uncertainty of the measurement

Típus Type	Mérés-tartomány Measurement range	Felbontás Resolution	Reprodukálhatóság Reproducibility	Linearitás Linearity
AX205DR	81/220 g	0,01/0,1 mg	<60 g: 0,04 mg	$\pm 0,08$ mg ¹
XS205DU	81/220 g	0,01/0,1 mg	0,02/0,05 mg	$\pm 0,02$ mg

¹500 mg-os tartományon belül.

¹In the 500 mg range.

A standardot a megfelelő oldószerezrel mérőlombikban feloldjuk (acetont, metanol, hexán stb.), majd ultrahangos fűdőbe helyezve biztosítjuk a tökéletes oldódást, ezt követően pedig az oldat szintjét pipettával jelre állítjuk. Az elkészített standard oldat azonosítására egy nyomtatványt készítünk, amelyben az anyag neve, laboratóriumi azonosító kódja, a bemért tömeg, az oldat kód-száma, a komponensek koncentrációja, az alkalmazott oldószerez, készítési-lejárat dátum, valamint az oldat készítőjének a neve szerepel. Az oldatot teflon béléssel csavaros tetejű barna üvegben tároljuk. A standard oldatra vonatkozó információkkal ellátott címkét helyezünk rá, és megmérjük a teljes tömegét, amit a standard nyilvántartásba bejegyzünk. A referencia standardokat mélyhűtőben $< -20^\circ\text{C}$ hőmérsékleten, a standard oldatokat $\leq 7^\circ\text{C}$ hőfokon hűtőszekrényben tároljuk.

A 2 mg/ml koncentrációjú törzsoldatokat a legtöbb esetben acetonnal készítjük el (az ismert standardok oldhatóságát figyelembe véve), ezzel elkerülve az oldószerváltásokat. Esetenként a megfelelő mennyiségű belső standard mennyiségét is hozzákeverjük, illetve a hangyasavas acetonitril helyett „mátrix match-es” kalibráció esetén előre elkészített vak mátrix oldatot használunk.

A fecskendőket használat után 10-15 alkalommal átmoszuk acetonnal, majd kiszárítjuk az ismételt felhasználáshoz.

B.1 2 mg/ml koncentrációjú törzsoldat

Vegyünk példának egy 99,8% tisztaságú analitikai szilárd standardot, amelyből 50,10 mg-t mérünk be egy 25 ml-es mérőlombikba (V_{25B}), acetonnal felöntjük, majd ultrahangos kádiban teljesen feloldjuk. Ezután az elkészített oldatot a lombikban jelre állítjuk.

B.2 20 µg/ml koncentrációjú ≤ 50 komponensű standard oldat

A B.1 pont szerint elkészített törzsoldatokat a hűtőből elővesszük, 2 órára aktív szilikagél felett exszikkátorban szobahőmérsékletre melegítjük. H_{100} fecskendővel kiveszünk 100 µl-t, amit egy előre erre a célra elmosott 10 ml-es mérőlombikba ($\pm 0,04$ pontosságú, V_{100B}) fecskendezünk, amibe előzőleg 1 ml acetont töl-

tünk. Minden törzsoldatból a koncentrációjának megfelelő térfogatot mérünk a lombikba, majd a lombik tartalmát vortexelve homogenizáljuk és pipettával jelre állítjuk. Az elkészített standard keveréket sötét üvegben mélyhűtőben $\leq -20^\circ\text{C}$ hőmérsékleten tároljuk és fél évig használjuk fel.

B.3 1 µg/ml koncentrációjú több száz komponensű standard oldat

A B.2 eljárás szerint készített 20 µg/ml oldatokat exszikkátorban szobahőmérsékletre melegítjük. 500-500 µl-t H_{500} fecskendővel V_{100B} mérőlombikba mérünk, homogenizáljuk, acetonnal jelre töltjük és felcímkézett barna üvegben mélyhűtőben maximum 3 hónapig tartva használjuk fel.

Kalibrációs sorok készítése standard keverékekkel

Kiindulásnak az 1 µg/ml acetonos mixet használjuk:

B.4 0,001 µg/ml: H_{10} fecskendővel kiveszünk 5 µl-t és 5 ml hangyasavas acetonitrilrel csavaros kalibrált kémcsőben (T_{5B}) 5 ml-es jelre töltünk.

B.5 0,002 µg/ml: H_{10} fecskendővel kiveszünk 10 µl-t és hangyasavas acetonitrilrel T_{5B} kémcsőben 5 ml jelre töltünk.

B.6 0,005 µg/ml: H_{10} fecskendővel kiveszünk 10 µl-t és hangyasavas acetonitrilrel T_{2B} -ben 2 ml-es jelre töltünk.

B.7 0,01 µg/ml: H_{10} fecskendővel kiveszünk 10 µl-t és hangyasavas acetonitrilrel T_{2B} -ben 1 ml-es jelre töltünk.

B.8 0,1 µg/ml: H_{100} fecskendővel kiveszünk 100 µl-t és hangyasavas acetonitrilrel, T_{2B} -ben 1 ml-es jelre töltünk.

4. A standard oldatok készítéséhez alkalmazott kalibrált eszközök névleges pontossága

A laboratóriumok a standard oldatok készítéséhez kalibrált üvegedényeket és 0.01 mg pontosságú analitikai mérlegeket használnak. Az alkalmazott eszközök jellemző paramétereit a 3. 4. és 5. táblázatok tartalmazzák.

Analitikai standardok esetében a tényleges hatóanyag-tartalom a megadott intervallumon belül bármelyik értéket felveheti. Ennek megfelelően egyenletes valószínűségű (rectangular) eloszlást tételeztünk fel, és a megadott tisztasági intervallumból a szórás gyök 3-as osztással számítjuk [4]. Ha az analitikai standard specifikációja szerint a tisztasága $99,8 \pm 0,5\%$, akkor a mérési eredmény bizonytalanságának a számításához a szórás (s) 1 mg standard bemérésre vonatkoztatva:

$s = 1 \cdot 0,98 \cdot 0,005 / \sqrt{3} = 2,829 \cdot 10^{-3}$ mg, ami $2,829 \cdot 10^{-3}$ relatív szórásnak (CV) felel meg.

A táblázatokban és a szövegben az 'E' a 10-es alapú hatványra utal: pl. a $2,829 \cdot 10^{-3} = 2,829 \times 10^{-3}$

A korábbi tapasztalatok alapján a kalibrált üvegeszközök specifikált tűréshatárát, háromszögű eloszlást feltételezve, gyök 6-tal osztva kapjuk meg a szórás. A CV-t pedig a névleges térfogat figyelembevételével számítjuk [4].

A mérlegek reprodukálhatóságát, ami a felbontás és a linearitás kombinációjából adódik, a gyártó által megadott adatok felhasználásával a szórás, normál eloszlást feltételezve 1,96-os osztással, a relatív bizonytalanságot pedig a bemért mennyiség figyelembevételével számítottuk. Például, ha a reprodukálhatóság $\pm 0,04$ mg, akkor 25 mg standard bemérésének relatív bizonytalansága (CV) $8,16 \cdot 10^{-4}$. A relatív bizonytalanságot ismételt mérési és laboratóriumon



A kép illusztráció / Picture is for illustration only
Fotó/Photo: Shutterstock

belüli reprodukálhatósági körülmények között végrehajtott mérések esetén a nemzetközi gyakorlatnak megfelelően, rendre, CV_r és CV_{RT} jelöljük.

A **4. táblázatban** feltüntetettük a gyártó pontossági specifikációjából számított relatív bizonytalanságot a bemért térfogatra vonatkozóan (CV_{RT}), a reprodukálhatósági mérések eredményéből számolt relatív bizonytalanságot (CV_{Exp}), ami tartalmazza a jelre töltés bizonytalanságát is (CV_{Rill}). A CV_{Rill} -t a CV_{RT} és CV_{Exp} értékekből számítottuk:

$$CV_{Rill} = \sqrt{CV_{Exp}^2 - CV_{RT}^2}$$

5. Az analitikai standard oldatok készítésének reprodukálhatósága

A bemérések pontosságát a felhasznált eszközök gyártási pontossága, amit a specifikált tolerancia (**4. táblázat**) valamint a bemérést végző analitikus gyakorlata, illetve személyi adottságai (látás, kéz ügyesség, koncentráció képesség) határozzák meg.

4. táblázat. A térfogatmérő eszközök specifikált toleranciája és a nominális térfogat bizonytalansága
Table 4 Specified tolerance of volume measuring equipment and the coefficient of variation of the nominal volume

Eszközök ¹ Equipment ¹	Rövid jel Abbreviation	T	CV_{RT} ⁵	CV_{Exp}	CV_{Rill}
Mérőlombikok / Volumetric flasks					
25 ml ^A	V ₂₅	±0.03 ml	4.899E-4	7.32E-3	7.30E-3
50 ml ^A	V ₅₀	±0.05 ml	4.082E-4	8.61E-4	7.59E-4
10 ml ²	V _{10B}	±0.04 ml	1.633E-3	2.87E-3	2.37E-3
25 ml ²	V _{25B}	±0.04 ml	6.532E-4	NA	
Centrifugacsövek/kémcsövek / Centrifuge tubes/test tubes					
2 ml ³	T ₂	±0.002 ml	4.082E-4	1.68E-2	1.68E-2
2 ml ²	T _{2B}	±0.04 ml	8.16E-3	1.61E-2	1.39E-2
1 ml ²	T _{2B}	±0.04 ml	1.63E-2	3.02E-2	2.54E-2
5 ml ²	T _{5B}	±0.04 ml	3.27E-3	3.00E-3	$CV_{Exp} < CV_{RT}$
8 ml ²	T ₈	±0.008 ml	4.182E-4	2.40E-3	2.36E-3
Hamilton fecskendők ⁴ / Hamilton syringes ⁴					
10 µl	H ₁₀	± 1E-4 µl	4.08E-3	1.16E-2	1.16E-2
5 µl	H ₁₀	± 0.5E-4 µl	4.08E-3	1.13E-2	1.05E-2
10 µl	H ₂₅	± 1E-4 µl	4.08E-3	7.31E-3	6.06E-3
20 µl	H ₂₅	± 2E-4 µl	4.08E-3	7.07E-3	5.77E-3
100 µl	H ₁₀₀	± 1.0E-2 µl	4.08E-3	3.14E-3	$CV_{Exp} < CV_{RT}$
200 µl	H ₂₅₀	± 2.0E-4 µl	4.08E-3	4.39E-3	1.61E-3
500 µl	H ₅₀₀	± 5.0E-2 µl	4.08E-3	3.10E-3	$CV_{Exp} < CV_{RT}$
250 µl	H ₅₀₀	± 2.5E-2 µl	4.08E-3	2.71E-3	$CV_{Exp} < CV_{RT}$
100 µl	H ₅₀₀	± 1.0E-2 µl	4.08E-3	5.45E-3	3.61E-3
1000 µl	H ₁₀₀₀	± 0.01 µl	4.08E-3	1.64E-3	$CV_{Exp} < CV_{RT}$

A: grade: ISO szabványnak megfelelő intervallum / A: class A, range according to the ISO standard
Rövid jel: az eszköz jelölése a szövegben / Abbreviation: abbreviation for the equipment in the text
T: a gyártó által specifikált pontossági intervallum / T: accuracy range specified by the manufacturer
 CV_{RT} : A „T” értéknek megfelelő relatív bizonytalanság jelre töltés esetén / CV_{RT} : coefficient of variation corresponding to the value „T” when filling to the mark
 CV_{Exp} : a 10 ismételt reprodukálhatósági mérés relatív bizonytalansága / CV_{Exp} : coefficient of variation of 10 repeated reproducibility measurements
 CV_{Rill} : a jelre töltés bizonytalansága / CV_{Rill} : coefficient of variation of filling to the mark
1: A bemért térfogatra vonatkozó adatok / 1: Data for the volume measured.
2: A Laborex eszközök garantált pontossága ±0.04 ml / 2: The guaranteed accuracy of Laborex equipment is ±0.04 ml.
3: 0.1% pontosságú pipettorral egyedileg kalibrálva / 3: Individually calibrated using a pipettor of 0.1% accuracy.
4: Hamilton fecskendők: gyártó által garantált pontosság ±1% / 4: Hamilton syringes: accuracy guaranteed by the manufacturer is ±1%.
5: A kimért térfogatra vonatkozik / 5: It refers to the measured volume

Az ismételhetőségi és reprodukálhatósági vizsgálatokat azok a munkatársak végezték, akik a standardokat rendszeresen készítik. A mérések a **2. táblázatban** feltüntetett típusú, naponta kalibrált Mettler mérlegekkel 0,01 mg pontossággal történtek. Az ismételhetőség meghatározása azonos eszköz 10-szer ismételt használatával történt. A méréseket 24-25°C hőmérsékleten végeztük.

5.1. Ismételhetőség meghatározása

Tömegmérés:

A mérleget a mérés előtt nulláztuk, a mérendő tiszta száraz edényt a mérlegre helyeztük, és 5 tizedes pontossággal feljegyeztük a tömegét. Az edényt minden mérés után levettük a mérlegről, a mérleget nullázzuk, majd az edényt fogóval visszahelyeztük a mérleg serpenyőjére és tömegét ismételtén megmértük. Az eljárást 10-szer egymás után megismételtük és feljegyezzük a mérlegszoza hőmérsékletét.

Térfogatmérés:

A tesztelendő tiszta és exsikkátorban szárított eszköz nettó súlyát megmértük, majd desztillált vízzel Pasteur pipetta segítségével pontosan jelig töltöttük, az edény tömegét ismételtén megmértük, a mérési eredményeket Excel munkafüzetben rögzítettük. A bemért víz tömegét a súlykülönbségekből számítottuk.

A bemért víz egy részét pipettával kivettük ügyelve arra, hogy a mérőlombik vagy a tesztcső fala ne legyen vizes, majd az edényt ismételtén jelig töltöttük és megmértük a tömegét.

5.2. Reprodukálhatóság (CV_r) meghatározása

A térfogatmérés reprodukálhatóságának meghatározására a laboratórium kalibrált mérőlombikjai, osztott centrifugacsövei vagy kémcsövei közül 10-10 darabot 24-25°C hőmérsékletű desztillált vízzel jelig töltöttünk, és a bemért víz mennyiségét 0,01 mg pontossággal megmértük. A felhasznált térfogatmérő eszközök tényleges átlagos térfogatát a 10 ismétlésben a jelre töltésre felhasznált desztillált víz átlagos tömegéből és sűrűségéből számítottuk. Az átlagosnak tekintett 24,5°C hőmérsékletű desztillált víz sűrűségét 0.9971749 g/ml értékkel számítottuk [5].

5. táblázat. Az analitikai standardokból és a bemérésükből származó bizonytalanság
Table 5 Coefficient of variation due to analytical standards and their measurements

Analitikai standard tisztasága ¹ / Purity of analytical standard ¹	Specifikáció Specification	CV_r
P±0.2%	P=1±0.002	1.132E-3
P±0.5%	P=1±0.005	2.829E-3
Tömeg mérés bizonytalansága / Coefficient of variation of mass measurement		
AX205DR 25 mg bemérésekor / AX205DR, when measuring 25 mg	±0.04 mg	8.16E-4
XS205DU 50 mg bemérésekor / XS205DU, when measuring 50 mg	±0.05 mg	5.10E-4

1: gyártó specifikációjától függően a standard tisztasága ±0,2% vagy ±0,5% tűrőhatáron belül van
1: Depending on the specification of the manufacturer, the tolerance limits for standard purity are ±0.2% or ±0.5%.

Az elkövetett hiba gyakorlatilag jelentéktelen, mivel a desztillált víz sűrűsége 24°C és 25°C-on, rendre, 0,9972994 g/ml és 0,9970480 g/ml. A 25 ml-es mérőlombikok jelre töltésekor kapott átlagos tömegből számított térfogat 24,89410 ml illetve 24,88844 ml, ami 0,025%-os különbséget jelent.

Az eredményeket a **6. táblázatban** foglaltuk össze. A táblázatban az egyes eszközöket a standard oldatok készítésénél feltüntetett kóddal jelöltük. Tekintve, hogy a munkánk eredményeként számoljuk az elkészült standard oldatok komponenseinek névleges koncentrációjának a kombinált bizonytalanságát, valamint a súlymérésen alapuló koncentrációkat, a táblázatban a számítások elvégzéséhez szükséges adatokat összesítettük. A számításokhoz felhasznált mérési sorozatokat a 6. táblázatban * jelzi.

6. Az elkészített analitikai standard oldatok pontossága és a névleges koncentrációjuk bizonytalansága

Az alábbiakban az ismert tisztaságú standard bemért mennyiségét milligrammban, a térfogatokat milliliterben adjuk meg. Az egyszerűség kedvéért a számításban 100%-os tisztaságot tételezünk fel, mert a standard bemérésénél a százalékos tisztaságot egyszerűen figyelembe lehet venni. Ha például a bemért analitikai standard 98% tisztaságú, akkor a 25 mg névleges tömeg helyett ~25,51 g-ot mérünk be.

Megjegyezzük, hogy nem szükséges a célzott tömeget pontosan (0,00001g) bemérni, mert az nagy idővesztéssel, anyagvesztéssel és a tiszta standard esetleges szennyeződésével járhat, ugyanis az elkészített standard oldatok névleges koncentrációját a ténylegesen pontosan bemért (±0,00001g) tömeg figyelembevételével egyszerűen számítani lehet.

Az elkészített standard oldatok súlymérésen alapuló koncentrációjának minimum, átlagos és maximális értékét, a legnagyobb bizonytalanságot eredményező, 10 ismételt mérés megfelelő adataiból számítottuk. Az eredményeket a **7. táblázatban** foglaltuk össze. A számítás menetét az 'A' laboratóriumban alkalmazott módszerek alapján mutatjuk be.

6. táblázat. A standard oldatok készítésekor alkalmazott műveletek ismételhetősége és reprodukálhatósága tömegmérés alapján.

Table 6. Repeatabilities and reproducibilities of the operations used when preparing standard solutions, based on mass measurements.

Eszköz Equipment	Mért tárgy Object measured	Mért tömeg [g] / Measured mass [g]			Ismételhetőség Repeatability CV _r	Reprodukálhatóság Reproducibility CV _R
		Min	Átlag Average	Max		
Tömegmérés / Mass measurement						
AX205DR	0.025 g ¹	0.02485	0.02504	0.02514		3.913E-03
	V ₂₅ (üres) / (empty)	22.88572	22.85577	22.88585	1.808E-6	
	T _{10A} (üres) / (empty)	23.17721	23.17744	23.17765	7.616E-6	
XS205DU	~50 mg ¹	0.04992	0.05000	0.05016		2.5451E-2
	V _{25B}	21.87202	21.872023	21.87203	1.0097E-8	
	T _{10B}	5.26156	5.26157	5.26158	1.49378E-7	
Térfogatmérés 'A' laboratórium / Volume measurement, laboratory 'A'						
H ₁₀₀₀	1000 µl ^a	1.00896	1.011305	1.01359		1.3289E-3
	1000 µl ^{a*}	1.00616	1.009013	1.001109		1.6403E-3
	1000 µl ^{a1}	1.00633	1.00883	1.01734		1.9211E-3
H ₅₀₀ *	250 µl ^a	0.25132	0.252146	0.25347		2.7128E-3
H ₂₅₀ *	100 µl ^a	0.10289	0.103559	0.10448		5.4498E-3
H ₂₅₀	100 µl	0.10065	0.101048	0.10194		3.5966E-3
H ₂₅₀ *	200 µl	0.20071	0.201655	0.20373		4.3870E-3
H ₂₅ *	10 µl	0.00981	0.010703	0.01388		1.0675E-1
H ₂₅	10 µl	0.00967	0.009771	0.00992		7.3080E-3
H ₂₅	20 µl	0.20071	0.201655	0.20373		4.387E-3
H ₂₅ *	20 µl	0.01956	0.019733	0.02003		7.0667E-3
V ₂₅ *	25 µl jelre ^b to the mark ^b	24.86175	24.96213	25.47811		7.320E-3
V ₅₀ *	50 µl jelre ^b to the mark ^b	49.73000	49.78170	49.84881		8.6148E-4
T ₁₀	10 µl jelre ^b to the mark ^b	9.90038	9.94585	9.98136		2.346E-3
T ₁₀ *	2 µl jelre ^b to the mark ^b	1.93346	1.98738	2.05567		1.684E-2
T ₁₀	2 µl jelre ^b to the mark ^b	1.96405	1.99446	2.05103		1.316E-2
T ₁₀ *	4 µl jelre ^b to the mark ^b	3.94755	3.98235	4.05248		7.549E-3
T ₈ *	8 µl jelre ^b to the mark ^b	7.94166	7.96199	7.98609		2.398E-3
Térfogatmérés 'B' laboratórium / Volume measurement, laboratory 'B'						
V _{25B} *	25 µl jelre ^c to the mark ^c	24.91319	24.91322	24.91324	2.4078E-8	6.532E-4 ^d
V _{10B} *	10 µl jelre ^b to the mark ^b	9.9319	9.9772	10.01874		2.8745E-3
V _{10B}	10 µl jelre ^b to the mark ^b	9.6691	9.8635	10.0101		1.2795E-2

Eszköz Equipment	Mért tárgy Object measured	Mért tömeg [g] / Measured mass [g]			Ismételhetőség Repeatability CV _r	Reprodukálhatóság Reproducibility CV _R
		Min	Átlag Average	Max		
H ₁₀₀ *	100 µl	0.09954	0.09998	0.1006		3.1393E-3
H ₅₀₀ *	500 µl	0.49632	0.49960	0.501		3.0980E-3
H ₁₀ *	5 µl	0.00482	0.004955	0.00502		1.1347E-2
H ₁₀ *	10 µl	9.890E-3	9.952E-3	1.001E-2		3.9857E-3
H ₁₀	10 µl	9.89E-3	9.967E-3	0.01001		3.2785E-3
T _{10B} *	10 µl jelre ^c to the mark ^c	10.03616	10.03622	10.03629	4.2586E-7	1.633E-3 ^d
T _{5B}	5 µl jelre ^b to the mark ^b	4.9608	4.98735	5.00244		2.56057E-3
T _{5B} *	5 µl jelre ^b to the mark ^b	4.9542	4.9752	5.00245		3.0E-3
T _{2B} *	2 µl jelre ^b to the mark ^b	1.9914	2.0337	2.09787		1.6087E-2
T _{2B} *	1 µl jelre ^b to the mark ^b	0.9824	1.0180	1.0898		3.0173E-2

Magyarázat:

1: 25 mg konyhasó bemérése „ahogy sikerül” nem törekedve az egészen pontos bemérésre

^a: 10-szeres ismétléssel

^{a1}: 70-szeres ismétléssel 7-szer 10 db centrifugacsőbe

^b: 10 különböző lombikba, centrifugacsőbe desztillált víz bemérése jelre töltéssel

^c: 1 db térfogatmérő eszköz 10-szer jelre töltése

^d: A 25 ml-es lombik ±0,04 ml specifikációjából (4. táblázat) és az egy lombik ismételt jelre töltésének relatív bizonytalanságából (CV_r) számítva (a közelítés megengedhető, mert a CV_r közel két nagyságrenddel kisebb, mint a mérőlombik specifikációjából számolt bizonytalanság)

Note:

1: weighing 25 mg of table salt „as well as can be”, not striving for very accurate weighing

^a: 10 repetitions

^{a1}: 70 repetitions, 7 times in 10 centrifuge tubes

^b: weighing of distilled water into 10 different flasks or centrifuge tubes, with filling to the mark

^c: filling 1 volume measurement equipment to the mark 10 times

^d: calculated from the ±0.04 ml specification of the 25 ml flask (Table 4) and from the coefficient of variation (Cv_r) of the repeated filling to the mark of the same flask (this approximation is permissible, because CV_r is nearly two orders of magnitude smaller than the uncertainty calculated from the specification of the volumetric flask)



A kép illusztráció / Picture is for illustration only
Fotó/Photo: Tolokán Adrienn

kapott jelek relatív ismételtettségéhez viszonyítva. Összehasonlítással, rutin alkalmazási körülmények között az 'A' laboratórium LC/MS-MS méréseinek a vizsgálat sorozat (batch) elején és végén mért jelekből számolva egy 10 napos intervallumban az átlagos jel reprodukálhatóság 1,8% volt.

Az egyes lépések varianciájának százalékos hozzájárulást az elkészített oldat bizonytalanságához az A.14 (0,005 µg/ml) és a B.6 (0,005 µg/ml) kalibráló oldatok példáján az **1 és 2. ábrák** szemléltetik.

Az A.14 és B.6 standard oldat készítési eljárás teljes varianciája 4,34E-4 és 6,96E-5.

Az **1. ábra** mutatja, hogy az A.14 standard oldat készítés utolsó lépésében a 10 ml-es osztott centrifugacső 2 ml jelre töltése a legbizonytalanabb lépés és közel 64%-kal járul hozzá a standard oldat teljes bizonytalanságához. E lépés nagyobb pontosságot

biztosító eszköz alkalmazásával javíthatja a kombinált bizonytalanságot.

A B6-os kalibráló oldat lépéseinek a hozzájárulása a kombinált bizonytalansághoz egyenletesebb. Valamivel jobb eredmény a 10ml oldat kimérése ismételtettségének a javításával érhető el.

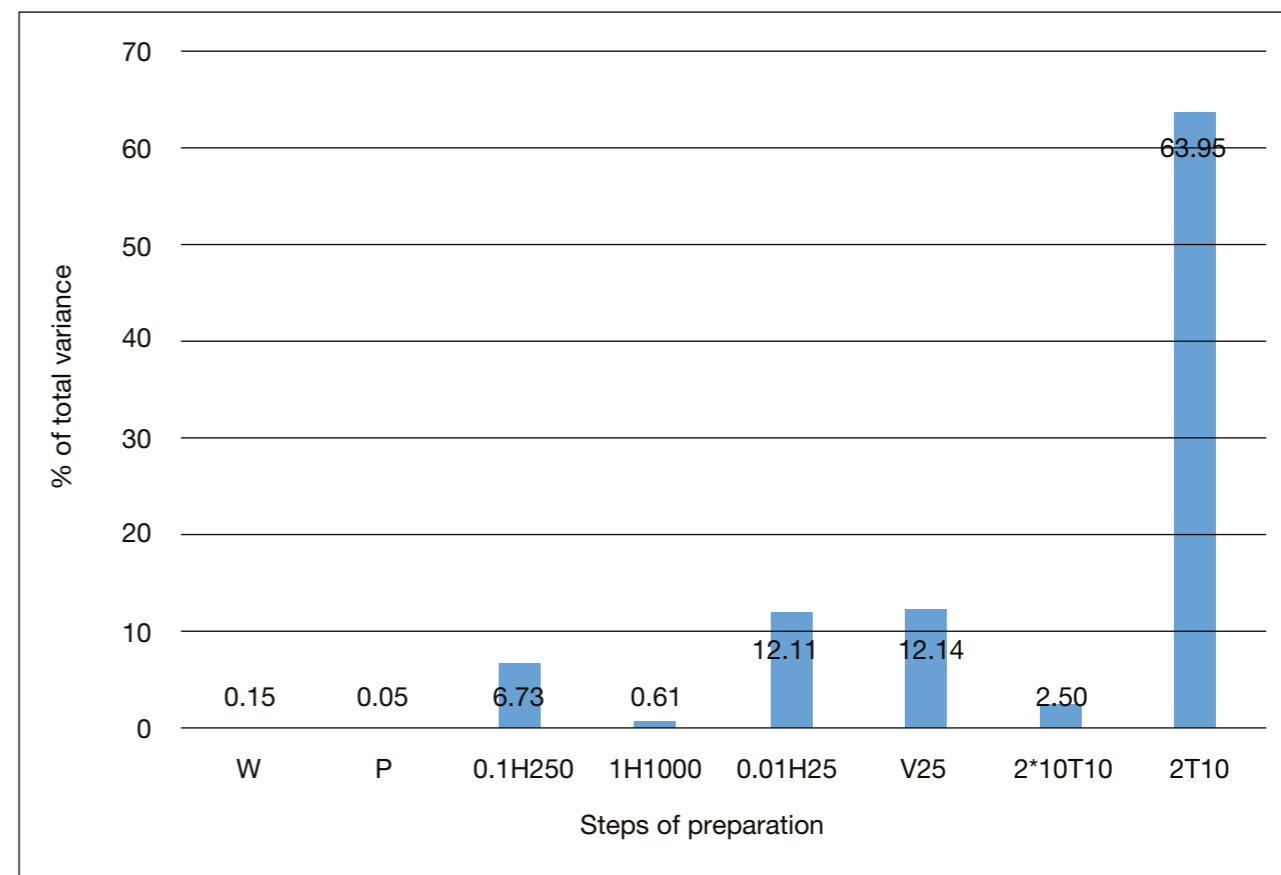
A mérőeszközök térfogatának specifikációjából adódó bizonytalansági értékek közelítőleg fele vagy kisebb volt a jelre töltés bizonytalanság értékeinek, s ennek megfelelően csak kis mértékben járultak hozzá az elkészített standard koncentrációjának a bizonytalanságához. Néhány esetben azonban a CV_{RT} nagyobb volt, mint a CV_{Exp} , következésképpen az eszköz kalibrációjának a bizonytalanság a bizonytalanság fő forrása. Ha a standard oldatok készítése tömegmérés alapján történik, akkor ez a bizonytalansági forrás kiküszöbölődik.

7. táblázat. A célzott és tényleges standard koncentrációk 10 ismételt mérés alapján¹
Table 7. Target and actual standard concentrations based on 10 repeat measurements¹

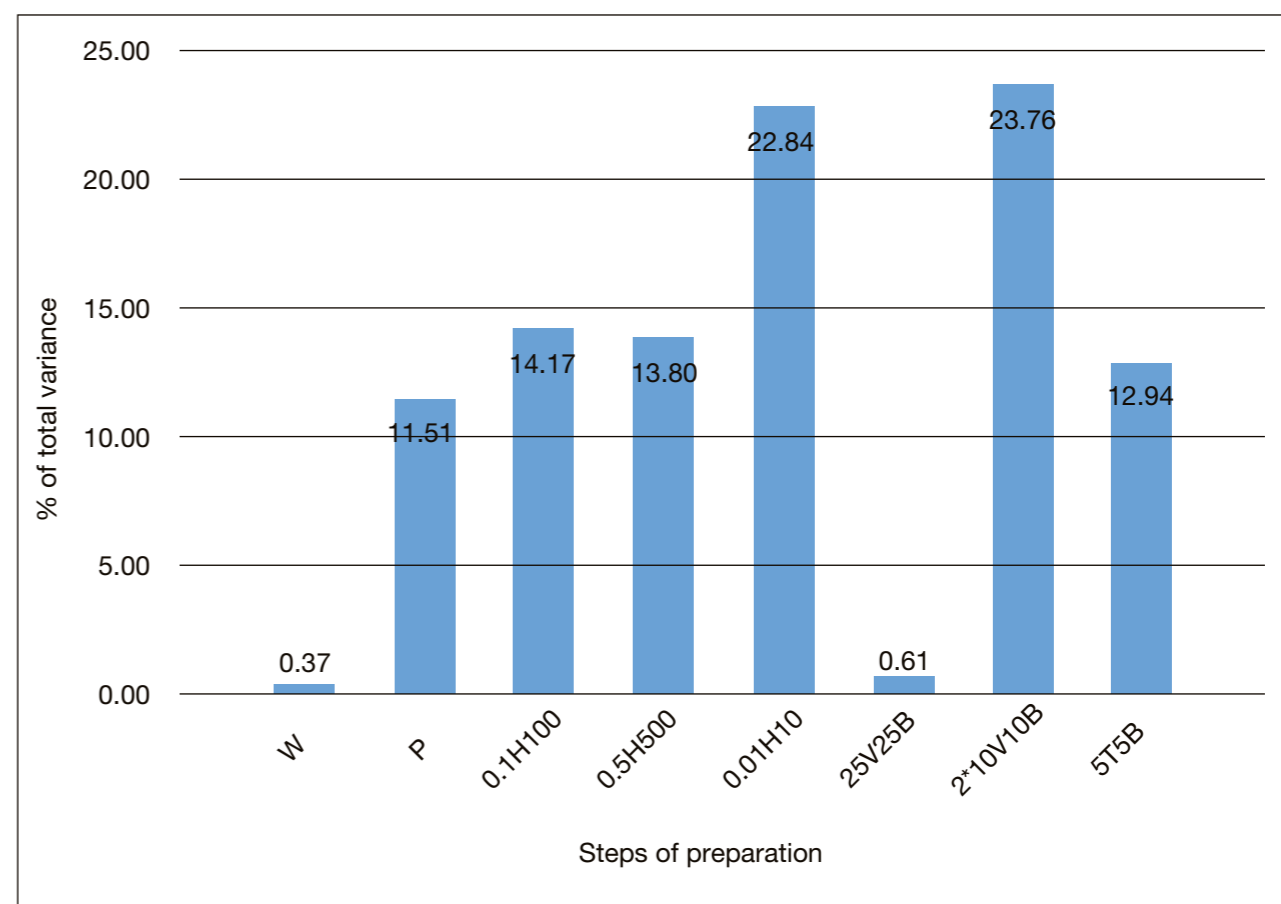
Standard kód Standard code	C_0 [mg/ml]	CV_R	Tényleges koncentráció [mg/ml] Actual concentration [mg/ml]			$\bar{\Delta}_{Ci}$ %	$\Delta_{Ci\ min}$ %	$\Delta_{Ci\ max}$ %
			C_{min}	Átlag	C_{max}			
A1	1	0.0079	0.9840	1.0044	1.0084	-0.44	-1.60	0.84
A2	0.01	0.0111	0.0097	0.0101	0.0103	-1.45	-2.93	2.81
A3	0.01	0.0099	0.0101	0.0104	0.0106	-4.28	1.44	6.42
A4	0.02	0.0081	0.0199	0.0204	0.0206	-1.77	-0.69	2.77
A5	0.005	0.0086	0.0050	0.0052	0.0053	-3.16	0.11	5.32
A6	0.001	0.0103	0.0010	0.0011	0.0011	-5.80	2.25	7.61
A7	1E-4	0.0202	9.98E-5	1.07E-4	1.13E-4	-7.35	-0.16	13.4
A8	5E-5	0.0204	5.12E-5	5.51E-5	5.82E-5	-10.26	2.36	16.3
A9	1E-6	0.0209	9.73E-6	1.05E-5	1.11E-5	-5.05	-2.71	11.5
A10	5E-6	0.0146	4.94E-6	5.24E-6	5.46E-6	-4.85	-1.29	9.20
A11	1E-4	0.0206	9.24E-5	1.00E-4	1.07E-4	-0.73	-7.64	6.51
A12	5E-5	0.0214	4.57E-5	4.99E-5	5.27E-5	0.24	-8.68	5.50
A13	1E-5	0.0209	9.73E-6	1.05E-5	1.11E-5	-5.05	-2.71	11.5
A14	5E-6	0.0210	4.81E-6	5.20E-6	5.52E-6	-4.03	-3.80	10.4
B1	2	0.0029	2.0013	2.0013	2.0013	-0.06	0.06	0.06
B2	0.02	0.0052	0.0199	0.0199	0.0203	0.32	-0.58	1.36
B3	0.001	0.0067	9.85E-4	9.98E-4	1.02E-3	0.17	-1.50	2.25
B4	1E-6	0.0135	9.49E-7	9.94E-7	1.03E-6	0.57	-5.09	3.61
B5	2E-6	0.0137	1.89E-6	1.99E-6	2.06E-5	4.13	-2.63	3.30
B6	5E-6	0.0209	4.50E-6	4.87E-6	5.12E-5	2.51	-7.13	2.80
B7	1E-5	0.0330	8.67E-6	9.73E-6	1.04E-4	2.66	-10.6	4.19
B8	1E-4	0.0310	9.00E-5	9.80E-5	1.05E-4	1.95	-10.0	4.71

¹A táblázat áttekinthetősége érdekében a kerekített értékek kerültek feltüntetésre, de a számítások az eredeti értékekkel történtek.

¹For easier overview of the table, rounded values are shown, but calculations were performed using the original values.



1. ábra. Az A14 standard oldat lépéseinek a hozzájárulása a 0,005 µg/ml koncentráció bizonytalanságához
Figure 1 Contributions of the preparation steps of standard solution A14 to the uncertainty of the concentration of 0.005 µg/ml



2. ábra. A B6 standard oldat lépéseinek a hozzájárulása a 0,005 µg/ml koncentráció bizonytalanságához
Figure 2 Contributions of the preparation steps of standard solution B6 to the uncertainty of the concentration of 0.005 µg/ml

A referencia anyagok tisztaságának bizonytalansága csak a törzsoldat koncentrációjának a bizonytalanságához járul hozzá. A 0,01 mg pontosságú mérés bizonytalansága nagyságrenddel alacsonyabb, mint a beméréshez használt mérőlombikoké, ezért a több lépcsőben készített hígítások pontosságát és bizonytalanságát gyakorlatilag nem befolyásolja.

Hangsúlyoznunk kell, hogy 0,1 mg pontosságú mérleg a standard oldatok 2. fejezetben ismertetett készítéséhez nem használható.

8. Javaslatok

Eredményeink egyértelműen bizonyítják, hogy a standard oldatokat sokkal pontosabban lehet 0,01 mg pontosságú tömegméréssel elkészíteni az utolsó lépésig, ahol az addig g/g-ban kifejezett koncentrációkat g/ml egységben kell kifejezni, mivel a kromatográfiás rendszerekbe a standard oldatok és minták ml-nyi mennyiségét injektáljuk.

Pontosabb mérleg használata indokolatlan, mert a 0,01 mg pontosságú mérések gyakorlatilag nem befolyásolják az elkészített standard oldatok pontosságát és a névleges koncentráció bizonytalanságát.

A standard oldatokat lehetőleg minél kevesebb lépésben kell elkészíteni és a végső térfogatot 'A' kategóriájú, vagy egyedileg kalibrált mérőlombikban állítsuk be.

A leg gondosabb munka mellett is előfordulhatnak mérési hibák, amelyek ismeretlen mértékben módosítják a standard oldat tényleges koncentrációját. Az esetleges mérési hiba hatásának kiküszöbölésére célszerű a törzsoldatot és a további hígításokra használt közbülső standard oldatot (pl. A6, B3) egymástól független beméréssel 2 párhuzamosan elkészíteni. Ha a belőlük készített 0,002 µg/ml vagy 0,005 µg/ml oldat detektált jelének különbsége kisebb, mint a laboratórium minőségbiztosítási kézikönyvében meghatározott érték (pl. 5%), akkor a két oldatot egyesítjük, és az átlagos névleges koncentrációjával számolva használjuk a további hígítások elkészítéséhez. Ha a különbség nagyobb, akkor szükséges egy harmadik oldat elkészítése. A három eredményből a két kisebb eltérést mutatót egyesítjük és az így kapott oldatokat használjuk a további mérésekhez.

A fentiek alapján készített új standard oldatokat lehet felhasználni a korábban készített oldatok komponensei stabilitásának az ellenőrzésére. A DG SANTE előírásának megfelelően a régi standard akkor használható, ha az új és a régi oldat koncentrációjának eltérése <10%.

9. Köszönetnyilvánítás

A szerzők nagyra értékelik Csatai Dávid, Mező-Preszser Orsolya, Radicsné Oros Judit, Szabó Fruzsina és Varga András munkatársaink lelkiismeretes és pontos munkáját.

10. Irodalom

- [1] DG SANTE (2015): Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed. SANTE/11945/2015 http://ec.europa.eu/food/plant/docs/plant_pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_11945_en.pdf (Hozzáférés: 2016. 09. 23.)
- [2] Ambrus Á, Vásárhelyi A. (2016): Növényvédőszer-maradékok vizsgálata Magyarországon 1967-2016, Pesticide residue analysis in Hungary between 1967-2016, Élelmiszervizsgáló Közlemények LXII. 1. 919-942.
- [3] Ambrus Á, Gregory Noonan G, Németh A, Kötelesné-Susztér G, Anastassiades M, Hamow K.Á, Solymosné M.E. 2017. A növényvédőszer-maradékok mennyiségi meghatározására alkalmazott analitikai sztenderd oldatok pontosságának ellenőrzése, Testing the accuracy of analytical standard solutions used for quantitative determination of pesticide residues, J. AOAC International, Accepted for publication
- [4] Ellison S.L.R, Williams A. eds. (2012): EURACHEM/CITAC guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement 3rd ed. Available from www.eurachem.org
- [5] Lide D, R. (ed) (2007-2008): CRC Handbook of Chemistry and Physics 88th ed., Boca Raton



Árpád Ambrus¹, Kamirán Áron Hamow², Gabriella Kötelesné Suszter³,
Anikó Németh³, Etelka Solymosné Majzik²

Received: 2016. August – Accepted: 2016. December

Accuracy of analytical standard solutions and the uncertainty in their nominal concentrations

Keywords: standard, quality assurance, pesticide, calibration

1. Summary

In the last step of the analysis, the accuracy of analytical standard solutions has a decisive influence on the measurement results of pesticide residues, as well as all other chemical contaminants, and, in the case of actual concentrations differing from nominal ones, can result in a systematic error during the determination of sample components. Therefore, most of the laboratories who feel responsible for their results pay special attention to the preparation and storage of standard solutions, and to replenishing solvent losses due to possible evaporation, based on the mass measurements of vessels storing standard solutions before and after use. However, in our experience, much less attention than necessary is paid in practical work to monitoring the possible decomposition of individual active ingredients, and not appropriate statistical methods are used for the evaluation of the monitoring results. In our article, we present the standard preparation methods of two laboratories employing “good analytical practices”, analyze the uncertainties of the different steps, and make a recommendation for the preparation of the most accurate standard solutions.

2. Introduction

For authority and national reference laboratories of European Union member states it is mandatory to participate in the relevant proficiency tests. A ring test (EU-RT-FV17) was organized by the European Union Reference Laboratory for Pesticide Residues in Fruit & Vegetables to reveal the reasons for results that proved to be inadequate, based on the criteria used for the evaluation of the performance of participating laboratories. The test sample contained 11 pesticide active ingredients in controlled concentrations in a pure solvent (**Table 1**). Mainly laboratories reporting inadequate results were included in the ring test, but participation was open to all interested laboratories (Carmen Ferrer Amate, Universidad De Almería-Edificio de Química, personal communication). Test results were reported by 36 laboratories, but in certain cases not for all of the components of the standard mix. No official evaluation of the test results has been published yet, therefore, **Table 1** lists only the relevant partial results. Results show that 17 to 23 testing organizations of the authority and reference laboratories of the EU could determine the concentrations of the 11 active ingredients

in the test sample with errors greater than the maximum acceptable difference (<10%) [1]. When looking at relative differences, the situation is even more critical, because pesticide residue concentrations at least twice as high as the actual concentrations in the test sample will be measured by laboratories with relative differences $\leq -50\%$, and the batch will be erroneously classified as unacceptable. However, in the case of a relative standard error of $>+100\%$, a pesticide residue concentration of $\leq 50\%$ of the actual one will be measured and reported, which makes marketing of batches containing pesticide residues in amounts exceeding the limit value possible. Thus, false “acceptable” results pose a food safety risk as well.

Taking into consideration the importance of the accuracy of standard solutions, the accuracies of the standard preparation methods, differing in certain details, of two Hungarian laboratories performing excellently and well in European proficiency tests [2] have been examined, as well as the uncertainties of the nominal concentrations of the standard mixes thus prepared. In this communication, methods for the preparation of standard solutions and their repro-

ducibilities are presented, as well as the effects of the equipment used during the preparation of solutions and multi-component standard mixes on the accuracies of the concentrations of the components in the solutions prepared and on the uncertainty of the nominal concentration. The statistical method that can be used for the determination of the difference between the actual concentrations of the components of the standard solutions and the concentration of the reference standard solution is published in a separate communication [3].

3. Methods used for the preparation of analytical standards

Application of the equipment used is performed in similar ways in the laboratories carrying out the tests. The procedure is only described in detail on the first occasion. A preliminary checking of the effectiveness of the method developed for cleaning the equipment is performed by the laboratories

Analytical standards are purchased from manufacturers with ISO 9001 certifications, who verify and certify the purity of the standards batch by batch.

3.1. Laboratory 'A'

Volumetric flask are of Class A, centrifuge tubes have been calibrated for each milliliter by the scientific glassblower with an accuracy of 0.1%.

A.1: 1 mg/ml stock solution

The analytical standard, that is kept in a freezer at a temperature of $<-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ is warmed to room temperature in a desiccator over activated silica gel and, taking into consideration its purity, 25 mg of it, with an accuracy of 0.01 mg, is measured into a 25 ml beaker, using a *Mettler AX 205-DR* type analytical balance, calibrated daily. The weighed standard is dissolved in 5ml of acetone, or another suitable solvent, and the solution is poured into a 25 ml Class A volumetric flask (V_{25}). The beaker is rinsed with 3x5 ml of acetone, which is poured into the volumetric flask and, if necessary, complete dissolution is aided by placing the flask in an ultrasonic bath.

The volumetric flask is filled to the mark using a Pasteur pipette, it is labeled, weighed, and the following data are recorded in the standard log: code and mass of the stock solution prepared, identifier, purity and weighed mass of the solid standard used, concentration of the stock solution prepared, the solvent used, the final volume and mass of the stock solution prepared, the dates of preparation and expiration, and the short signature and initials of the employee preparing the solution. Until further use, the solution is kept in a refrigerator at $<7\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Usual storage times are summarized in **Table 2**, noting that, in our experience, components more prone to decomposition are only stored for shorter periods.

A.2. Preparation of a 10 $\mu\text{g/ml}$ standard mix in acetone with no more than 100 components

The masses of the stock solutions, taken out of the refrigerator, are checked after their temperature reached room temperature. If there is a mass difference due to evaporation, then the mass of the stock solution is restored to the last value recorded in the log using acetone. Using a 500 μl Hamilton syringe (H_{500}) 250 μl of the 1 mg/ml stock solutions are transferred into the V_{25} flask. The syringe is rinsed with acetone at least 3 to 5 times before use, and 5 to 7 times after the transfer. After transferring the stock solutions, the flask is filled to the mark using a Pasteur pipette, it is shaken, labeled, its mass is measured and recorded.

A.3. 10 $\mu\text{g/ml}$ standard solutions with several components

Standard mixes for ad hoc analyses are prepared according to procedure A.2, but 100 μl of the stock solution is transferred to a 10 ml screw cap calibrated centrifuge tube (T_{10}) using a H_{250} syringe.

A.4. Preparation of a 20 $\mu\text{g/ml}$ standard solution with ≤ 50 components

From the individual stock solutions (A.1) taken out of the refrigerator, 1 ml is transferred to a 50 ml volumetric flask (V_{50}) using a 1000 μl Hamilton syringe (H_{1000}), after checking their masses at room temperature. After measuring the standards, the flask is filled to the mark using a Pasteur pipette, it is labeled, shaken its mass is measured and recorded. Standard solutions with several hundred components are prepared from the so-called sub-mixes with concentrations of 20 $\mu\text{g/ml}$.

A.5 Preparation of a 5 $\mu\text{g/ml}$ standard solution with 350 components

From the 7 sub-mixes prepared according to procedure A.4, 1000 μl of each is transferred to an 8 ml calibrated screw cap centrifuge tube (T_8) using a H_{1000} syringe. The volume is reduced to $<1\text{ ml}$ using a gentle flow of air, and then the transfer of 7x1000 μl is repeated. The tube is filled to the mark using a Pasteur pipette. The nominal concentration of the standard mix thus prepared is 5 $\mu\text{g/ml}$. This standard mix can be used for three months, for example for recovery tests at the 0.1 mg/kg level.

¹ Retired scientific adviser; National Food Chain Safety Office

² National Food Chain Safety Office, Pesticide Residue Analytical Laboratory Velence

³ WESSLING Hungary Kft.

A.6. 1 µg/ml: 1000 µl of the 10 µg/ml solution is filled to the mark in a 10 ml centrifuge tube using a H₁₀₀₀ syringe.

Preparation of calibration series from a 1 µg/ml acetone solution by solvent exchange

A.7. 0.1 µg/ml: 200 µl is transferred to a 10 ml centrifuge tube using a H₂₅₀ syringe, concentrated by a weak flow of air or allowed to evaporate, and then filled to the 2 ml mark using a liquid chromatography eluent.

A.8. 0.05 µg/ml: 100 µl is taken using a H₂₅₀, and the solvent is exchanged according to A.7.

A.9. 0.01 µg/ml: 20 µl is taken using a 25 µl Hamilton syringe (H₂₅), and the solvent is exchanged to 2 ml of a liquid chromatography eluent.

A.10. 0.005 µg/ml: 20 µl is taken using a H₂₅ syringe, and the solvent is exchanged to 4 ml of a liquid chromatography eluent.

Preparation of calibration series from a 10 µg/ml acetone solution without solvent exchange

A.11. 0.1 µg/ml: 20 µl of a 10 µg/ml standard solution is taken using a H₂₅ syringe, and is filled to the 2 ml mark directly using a liquid chromatography eluent.

A.12. 0.05 µg/ml: 10 µl of a 10 µg/ml standard solution is taken using a H₂₅ syringe, and is filled to the 2 ml mark directly using a liquid chromatography eluent.

A.13. 0.01 µg/ml: 20 µl of a 1 µg/ml standard solution is taken using a H₂₅ syringe, and is filled to the 2 ml mark directly using a liquid chromatography eluent.

A.14. 0.005 µg/ml: 10 µl of a 1 µg/ml standard solution is taken using a H₂₅ syringe, and is filled to the 2 ml mark directly using a liquid chromatography eluent.

Notes:

- It is not recommended to take solutions with volumes less than 10 µl. If you want to prepare solutions with other concentrations, the Hamilton syringe to be used should be selected in accordance with the volume to be measured.
- If a different concentration without solvent exchange is required, then care should be taken that, without evaporation, no more than 50 µl of acetone remains in the liquid chromatography eluent with a volume of 2 ml

(i.e., one volume unit of the liquid chromatography eluent contains no more than 2.5% of acetone).

- Number of calibration points: should be ≥3 in the case of screening tests; ≥5 in the case of quantitative confirmation, validation.

3.2. Laboratory 'B'

General practice:

The analytical standard, allowed to warm to room temperature in a desiccator over activated silica gel, is measured into a 25 ml volumetric flask with an accuracy of ± 0.04 ml, previously washed, rinsed with acetone, dried in a drying cabinet and stored in a desiccator for two days. The mass to be measured accurately (±0.01 mg) is determined taking into account the purity of the substance, and it is measured using an analytical balance calibrated daily. In the case of solid standards, disposable plastic spatulas, in the case of liquid substances, automatic pipettes are used for the measurements.

The standard is dissolved in a volumetric flask in the appropriate solvent (acetone, methanol, hexane, etc.), complete dissolution is ensured by placing the flask in an ultrasonic bath, and then the flask is filled to the mark using a pipette. For the identification of the standard solution prepared, a form is prepared, containing the name of the substance, its laboratory ID code, the mass measured, code number of the solution, the concentrations of the components, the solvent used, the dates of preparation and expiration, and the name of the person preparing the solution. The solution is stored in a screw cap brown glass bottle with a Teflon liner. A label is placed on the bottle containing the information regarding the standard solution, and the total mass is measured, which is then entered into the standard registration. Reference standards are stored in a freezer at a temperature of <-20 °C, while standard solutions are stored in a refrigerator at a temperature of ≤7 °C.

In most cases, 2 mg/ml stock solutions are prepared using acetone (taking into account the solubilities of the known standards), thus avoiding the need for solvent exchange. Occasionally, the appropriate amount of internal standard is mixed in or, in the case of matrix-matched calibration, a previously prepared blank matrix solution is used instead of acetonitrile with formic acid.

After use, syringes are washed with acetone 10 to 15 times, then dried before using them again.

B.1 2 mg/ml stock solution

As an example, take a solid analytical standard of 99.8% purity, of which 50.10 mg is measured into a 25 ml volumetric flask (V_{25B}), acetone is added, and

dissolution is completed in an ultrasonic bath. Then the flask is filled to the mark.

B.2 20 µg/ml standard solution with ≤50 components

The stock solutions prepared according to B.1 are taken out of the refrigerator, and allowed to warm to room temperature over 2 hours in a desiccator over activated silica gel. 100 µl is taken using a H₁₀₀ syringe, and it is injected into a 10 ml volumetric flask (±0.04 accuracy, V_{10B}) washed for this purpose, into which 1 ml of acetone was placed in advance. From each stock solution, the appropriate amount is measured into the flask, corresponding to its concentration, then the contents of the flask are homogenized by vortexing, and filled to the mark using a pipette. The standard mix thus prepared is stored at ≤-20 °C in a dark bottle in a freezer, and can be used for half a year.

B.3 1 µg/ml standard solution with several hundred components

20 µg/ml solutions prepared according to procedure B.2 are allowed to warm to room temperature in a desiccator. 500 µl of each is measured into a V_{10B} volumetric flask using a H₅₀₀ syringe, the solution is homogenized, filled to the mark with acetone, stored in a labeled brown bottle in a freezer. It can be used for no more than 3 months.

Preparation of calibration series using standard mixes

Start with the 1 µg/ml acetone mix:

B.4 0.001 µg/ml: take 5 µl using a H₁₀ syringe, and fill to the 5 ml mark in a screw cap calibrated test tube (T_{5B}) using acetonitrile with formic acid.

B.5 0.002 µg/ml: take 10 µl using a H₁₀ syringe, and fill to the 5 ml mark in a T_{5B} test tube using acetonitrile with formic acid.

B.6 0.005 µg/ml: take 10 µl using a H₁₀ syringe, and fill to the mark in T_{2B} using acetonitrile with formic acid.

B.7 0.01 µg/ml: take 10 µl using a H₁₀ syringe, and fill to the 1 ml mark in T_{2B} using acetonitrile with formic acid.

B.8 0.1 µg/ml: take 100 µl using a H₁₀₀ syringe, and fill to the 1 ml mark in T_{2B} using acetonitrile with formic acid.

3. Nominal accuracy of the calibrated equipment used for the preparation of standard solutions

Calibrated glassware and analytical balances with an accuracy of 0.01 mg are used by the laboratories for the preparation of standard solutions. Characteristic parameters of the equipment used are listed in **Tables 3, 4, and 5**.

In the case of analytical standards, the actual active ingredient content can take any value within the given range. Accordingly, a rectangular distribution was assumed, and the standard deviation is calculated from the given purity range by division by the square root of 3 [4]. If, according to the specification, the purity of the analytical standard is 99.8±0.5%, then the standard deviation (s) for the calculation of the uncertainty of the measurement result (s), for a weighing of 1 mg standard:

$s=1*0.98*0.005/\sqrt{3}=2.829E-3$ mg, corresponding to a coefficient of variation (CV) of 2.829E-3.

In the tables and in the text 'E' refers to the power of base 10: e.g., 2.829E-3 = 2.829x10⁻³

Based on previous experience, assuming a triangular distribution, the standard deviation is obtained by division of the specified tolerance limits of calibrated glassware by the square root of 6. The CV is then calculated taking into account the nominal volume [4].

Reproducibilities of the balances, resulting from the combination of the resolution and the linearity, were calculated from data provided by the manufacturer, the standard deviation, assuming a normal distribution, was calculated by a division by 1.96, while the coefficient of variation was calculated taking into account the amount weighed. For example, if the reproducibility is ±0.04 mg, then the coefficient of variation (CV) of the weighing of 25 mg of a standard is 8.16E-4. In the case of measurements carried out under repeatability conditions and under reproducibility conditions within the laboratory, the coefficients of variation are indicated by CV_r and CV_R, respectively, in accordance with international practice.

Table 4 shows the coefficients of variation calculated from the accuracy specifications of the manufacturer relative to the volume measured (CV_{RT}), and the coefficient of variation calculated from the results of reproducibility measurements (CV_{Exp}), containing the coefficient of variation of filling to the mark (CV_{fill}). CV_{fill} was calculated from the values of CV_{RT} and CV_{Exp}:

$$CV_{Rfill} = \sqrt{CV_{Rexp}^2 - CV_{RT}^2}$$

4. Reproducibility of the preparation of analytical standard solutions

The accuracies of the weighings are determined by the manufacturing accuracy of the equipment used, defined by the specified tolerance (**Table 4**), and by the experience of the analyst performing the weighing, and his or her personal abilities (vision, dexterity, ability to concentrate).

Repeatability and reproducibility studies were carried out by the same persons, who prepares standards regularly. Measurements were carried out with an accuracy of 0.01 mg using the Mettler balances listed in **Table 2**, calibrated daily. For the determination of repeatability, the same equipment was used 10 times. Measurements were carried out at a temperature of 24 to 25 °C.

5.1. Determination of repeatability

Mass measurement:

Before measurement, the balance was zeroed, the clean and dry container to be measured was placed on the balance, and its mass was recorded to five decimal places. After each measurement, the container was removed from the balance, the balance was zeroed, and the container was placed on the pan of the balance again using tongs, and its mass was measured again. The procedure was repeated 10 times in succession, and the temperature of the balance room was recorded.

Volume measurement:

The net mass of the clean equipment to be tested, dried in a desiccator, was measured, and then it was filled accurately to the mark using distilled water and a Pasteur pipette, the mass of the vessel was measured again, and the measurement results were recorded in an Excel worksheet. The mass of the water weighed was calculated from the mass differences.

A portion of the water weighed was removed using a pipette, taking care to keep the wall of the volumetric flask of the test tube dry, then the vessel was filled to the mark again and its mass was measured.

5.2. Determination of reproducibility (CV_R)

To determine the reproducibility of volume measurement, 10 pcs from each of either the calibrated volumetric flasks, graduated centrifuge tubes or test tubes of the laboratory were filled to the mark using distilled water of a temperature of 24 to 25 °C, and the amount of water was weighed to the nearest 0.01 mg. The actual average volume of the volume measurement equipment used was calculated from the average mass and density of the distilled water used to fill to the mark in 10 repetitions. A value of 0.9971749 was used [5] in the calculations as the density of water of 24.5 °C, was considered to be the average temperature. The error thus introduced is practically negligible, because the densities of distilled water at 24 °C and 25 °C are 0.9972994 g/ml and 0.9970480 g/ml, respectively. The volumes calculated from the average mass obtained when filling the 25 ml volumetric flask to the mark are 24.89410 ml and 24.88844 ml, meaning a difference of 0.025%.

Results are summarized in **Table 6**. In the table, the individual equipment are listed using the code used at the preparation of standard solutions. Considering that the combined uncertainties of the nominal concentrations of the components of the standard solutions prepared and concentrations based on mass measurements are calculated as the result of our work, the data necessary for performing the calculations are summarized in the table. The measurement sequences used for the calculations are indicated with (*) in Table 6.

6. Accuracy of the analytical standard solutions prepared and the uncertainty of their nominal concentrations

The weighed amounts of standards of known purity are given below in milligrams and the volumes in milliliters. For simplicity, a purity of 100% is assumed for the calculations, because the percentage purity of the standard can be taken into consideration easily during the weighing. For example, if the analytical standard to be weighed is of 98% purity then, instead of the nominal mass of 25 mg, ca. 25.51 g is weighed.

It should be noted that it is not necessary to weigh the target mass accurately (0.00001 g), because this could lead to a great loss of time, a loss of material and possible contamination of the pure standard. The nominal concentrations of the standard solutions prepared can be calculated easily by taking into account the actual accurately weighed mass (± 0.00001 g).

Minimum, average and maximum values of the concentrations of the standard solutions prepared, based on mass measurement, were calculated from the appropriate data of 10 repeat measurements, resulting in maximum uncertainty. Results are summarized in **Table 7**. The calculation procedure is demonstrated on the method used in laboratory 'A'.

6.1. Standard preparation method of laboratory 'A'

The procedures used are described in Section 3.1., where the symbols representing the equipment used for weighing were explained.

A1: 1 mg/ml stock solution: $C_{A1} = \frac{m \cdot p}{V_{25}} = \frac{25 \cdot 1}{25} = \frac{mg}{ml}$

The coefficient of variation of the stock solution CV_A :

$$C_{A1} = \sqrt{CV_{w25}^2 + CV_p^2 + CV_{v25}^2}$$

Where, m= the mass of the weighed standard of known purity in milligrams; p= the purity of the standard in mass fraction; V_{25} denotes the 25 ml volumetric

flask. The coefficient of variation of weighing 25 mg is $CV_{w25} = 8.163E-4$; the coefficient of variation of the purity of the standard in the case of weighing 25 mg is $2.829E-3$; for filling the 25 ml volumetric flask to the mark it is $CV_{v25} = 7.32E-3$.

$$CV_{A1} = (0.0008163^2 + 0.002829^2 + 0.00732^2)^{1/2} = 0.00789 = 0.789\%$$

Actual (min.-max.) concentration: 1.004372 mg/ml (0.9840-1.00842 mg/ml).

A2: 10 µg/ml dilution:

$$C_{A2} = C_{A1} * \frac{0.25H_{500}}{25V_{25}} = 0.01C_{A1}$$

$$C_{A1} = \sqrt{CV_{w25}^2 + CV_p^2 + CV_{V25}^2 + CV_{H0.25}^2 + CV_{V25}^2}$$

$$C_{A2} = \sqrt{CV_{A1}^2 + CV_{H0.25}^2 + CV_{V25}^2}$$

A3: 10 µg/ml dilution:

$$C_{A3} = C_{A1} * \frac{0.1H_{250}}{10T_{10}} = 0.01C_{A1}$$

$$C_{A2} = \sqrt{CV_{A1}^2 + CV_{H00}^2 + CV_{T10}^2}$$

A4: 20 µg/ml sub-mix:

$$C_{A4} = C_{A1} * \frac{1H_{1000}}{50V_{50}} = C_{A1} * 0.02$$

$$CV_{A4} = \sqrt{CV_{A1}^2 + CV_{H1000}^2 + CV_{V50}^2}$$

Calculated concentrations are for a given component, and they depend on the weighed amount. CV_{A4} is for each component.

A5: 5 µg/ml combined mix with 350 components:

$$C_{A5} = C_{A4} * \frac{1H_{1000} + 1H_{1000}}{V_{T8}} = C_{A4} * 0.25$$

$$C_{2 \times 1ml} = \frac{\sqrt{2 \times SD_{H1000}}}{2}$$

The standard deviation of the 1000 µl weighing was calculated from the square root of the average variance of the measurement repeated 7 x 10 times: $SD_{ave} = 2.0021E-3$. Considering that, from an A4 sub-mix, 2 x 1 ml were weighed, the value of CV for 1 ml of standard solution is obtained by dividing the calculated standard deviation by 2: $CV_{2 \times 1ml} = 1.4157E-3$

$$CV_{A5} = \sqrt{CV_{A4}^2 + CV_{2 \times H1000}^2 + CV_{T8}^2}$$

Preparation of calibration series with solvent exchange

The uncertainty due to solvent evaporation was not taken into consideration because of the disproportionately large measurement uncertainty of the small

masses weighed. In order to obtain accurate results, the evaporation has to be performed using a very gentle flow of air.

A6: 1 µg/ml dilution:

$$C_{A6} = C_{A3} * \frac{1H_{1000}}{10T_{10}} = 0.1C_{A3}$$

$$CV_{A6} = \sqrt{CV_{A3}^2 + CV_{H1000}^2 + CV_{T10}^2}$$

A7: 0.1 µg/ml:

$$C_{A7} = C_{A6} * \frac{0.2H_{250}}{2T_{10}} = 0.1C_{A6}$$

$$CV_{A7} = \sqrt{CV_{A6}^2 + CV_{H200}^2 + CV_{T2}^2}$$

A8: 0.05 µg/ml:

$$C_{A8} = C_{A6} * \frac{0.1H_{250}}{2T_{10}} = 0.05C_{A6}$$

$$CV_{A8} = \sqrt{CV_{A6}^2 + CV_{H100}^2 + CV_{T10.2}^2}$$

A9: 0.01 µg/ml:

$$C_{A9} = C_{A6} * \frac{0.02H_{25}}{2T_{10}} = 0.01C_{A6}$$

$$CV_H = \sqrt{CV_{A6}^2 + CV_{H20}^2 + CV_{T10.2}^2}$$

A10: 0.005 µg/ml:

$$C_{A10} = C_{A6} * \frac{0.02H_{25}}{4T_{10}} = 0.005C_{A6}$$

$$CV_I = \sqrt{CV_{A6}^2 + CV_{H20}^2 + CV_{T10.4}^2}$$

Preparation of calibration series without solvent exchange

A11: 0.1 µg/ml:

$$C_{A11} = C_{A2} * \frac{0.02H_{25}}{2T_{10}} = 0.01C_{A2}$$

$$CV_{A11} = \sqrt{CV_{A2}^2 + CV_{H20}^2 + CV_{T10.2}^2}$$

A12: 0.05 µg/ml:

$$C_{A12} = C_{A2} * \frac{0.01H_{25}}{2T_{10}} = C_{A2} * 0.005$$

$$CV_{A12} = \sqrt{CV_{A2}^2 + CV_{H20}^2 + CV_{T10.2}^2}$$

A13: 0.01 µg/ml:

$$C_{A13} = C_{A6} * \frac{0.02H_{25}}{2T_{10}} = 0.01C_{A6}$$

$$CV_{A13} = CV_{A9} = \sqrt{CV_{A6}^2 + CV_{H20}^2 + CV_{T10.2}^2}$$

A14: 0.005 µg/ml:

$$C_{A14} = C_{A6} * \frac{0.01H_{25}}{2T_{10}} = 0.005C_{A6}$$

$$CV_{A14} = \sqrt{CV_{A6}^2 + CV_{H100}^2 + CV_{T10.2}^2}$$

Detailed concentration calculation for standard solution **A14**

$$C_{A14} = \frac{25_w * I_p * 0.1_{H250} * I_{H1000} * 0.01_{H25}}{25_{v25} * 10_{T10} * 10_{T10} * 2_{T10}}$$

6.2. Analytical standard preparation methods of laboratory 'B'

The procedures used were described in **Section 3.2**. Actual concentrations of the standard solutions and their coefficients of variations were calculated using the procedure described in **Section 5.1**.

The coefficient of variation of the purity of the analytical standard is the same as in the case of laboratory 'A' $CV_p = 2.829E-3$. The coefficient of variation of weighing 50 mg (Table 5) is $5.10E-4$.

$$\text{B1: 2 mg/ml stock solution } C_{B1} = \frac{m_{*p}}{V_{25}} = \frac{50 * 1}{25} = \frac{2 \text{ mg}}{\text{ml}}$$

$$CV_{B1}: \quad CV_{B1} = \sqrt{CV_{w50}^2 + CV_p^2 + CV_{V25}^2}$$

$$\text{B2: 20 } \mu\text{g/ml} \quad C_{B2} = C_{B1} \frac{0.1_{H100}}{10_{V10B}}$$

$$\text{B3: 1 } \mu\text{g/ml} \quad C_{B3} = C_{B2} \frac{0.5_{H500}}{10_{V10B}}$$

$$\text{B4: 0.001 } \mu\text{g/ml} \quad C_{B5} = C_{B3} \frac{0.005_{H10}}{5_{T5B}}$$

$$\text{B5: 0.002 } \mu\text{g/ml} \quad C_{B6} = C_{B3} \frac{0.01_{H10}}{5_{T5B}}$$

$$\text{B6: 0.005 } \mu\text{g/ml} \quad C_{B7} = C_{B3} \frac{0.01_{H10}}{2_{T5B}}$$

$$\text{B7: 0.01 } \mu\text{g/ml} \quad C_{B8} = C_{B3} \frac{0.01_{H10}}{1_{T2B}}$$

$$\text{B8: 0.1 } \mu\text{g/ml} \quad C_{B10} = C_{B3} \frac{0.1_{H100}}{1_{T2B}}$$

$$\text{B6 0.005 } \mu\text{g/ml: } C_{B6} = \frac{50 * 1_p * 0.1_{H10} * 0.5_{H500} * 0.01_{H10}}{25_{V25B} * 10_{V10} * 10_{V10} * 5_{TB}}$$

6. Evaluation of the results

When applying the equipment used for measurements, coefficients of variation calculated from their specifications are listed in **Tables 3 and 4**.

Results of the reproducibility analyses based on mass measurements in 10 repetitions are summarized in **Table 7**. Calculations of the minimum and maximum concentrations were performed using the formulas below:

$$C_{min} = \frac{m_{min}}{V_{max}} \quad \text{and} \quad C_{max} = \frac{m_{max}}{V_{min}}$$

Where m_{min} and m_{max} , and V_{min} and V_{max} denote the minimum and maximum masses measured during

the 10 repetitions, and the corresponding volumes calculated with the density of distilled water [mxp].

The uncertainty of the target concentration was estimated with the CV_R value calculated from the reproducibility measurement results of the equipment used, according to the formulas given in **Section 5.1**.

Relative differences $[D_i]$ between C_{max} and C_{min} , and the target nominal concentration, C_0 , were calculated according to the following formulas:

$$\Delta_{C_{imax}} = \frac{C_{imax} - C_{io}}{C_{io}} \quad \text{and} \quad \Delta_{C_{imin}} = \frac{C_{imin} - C_{io}}{C_{io}}$$

while the relative difference between the average concentration and the target concentration was calculated as follows:

$$\bar{\Delta}_{Ci} = \frac{C_{io} - \bar{C}_i}{\bar{C}_{io}}$$

where 'i' denotes the different nominal concentrations.

The relative difference of the average measured concentrations and target concentrations ($\Delta_{Ci} \%$) showed a negative deviation of $\approx <10\%$ in laboratory 'A'. In laboratory 'B', the deviation was positive ($<4.1\%$). More relevant information regarding the reliability of the results can be gained by considering the relative difference between the minimum and maximum concentrations obtained from 10 repeat measurements (Δ_{Ci}), which slightly exceeded 10% in both laboratories in the case of solutions used for low concentration calibration. Such a difference in the accuracies of standard solutions cannot be accepted, and justifies mass measurement based preparation of standard solutions, because in this case the concentration of the solution prepared is known much more accurately.

The coefficients of variation of standard solutions prepared by weighing was typically around 2 to 3% for low concentration standard solutions, resulting primarily from the coefficient of variation of filling to the mark (CV_{Rfill}) (**Table 4**). A 2 to 3% coefficient of variation is considered a borderline case, because correct results are obtained by linear regression, which is applied by software calculations of the calibration curves, if the uncertainty of the calibration solutions is negligible compared to the relative repeatabilities of the signals obtained. For comparison, under routine operating conditions, the average signal reproducibility of the LC/MS-MS measurements of laboratory 'A', calculated from the signals measured at the beginning and at the end of the batch over a 10-day period was 1.8%.

The percentage contributions of the variances of the individual steps to the uncertainty of the solution prepared are illustrated in **Figures 1 and 2**, using as examples calibration solutions A.14 (0.005 $\mu\text{g/ml}$) and B.6 (0.005 $\mu\text{g/ml}$).

The total variances of the preparation procedures of standard solutions A.14 and B.6 are $4.34E-4$ and $6.96E-5$, respectively.

Figure 1 shows that, in the last step of the preparation of standard solution A.14, filling the 10 ml graduated centrifuge tube to the 2 ml mark is the step with the greatest uncertainty, and it contributes to the total uncertainty of the standard solution with nearly 64%. The combined uncertainty can be improved by replacing this step by the application of a more reproducible equipment.

Contributions of the steps of calibration solution B6 to the combined uncertainty are more even. Somewhat better results can be obtained by improving the repeatability of the weighing of the 10 μl solution.

Approximately one half of the uncertainty values resulting from the volume specifications of the measuring equipment were lower than the uncertainty values of filling to the mark and, accordingly, only contributed to the uncertainty of the concentration of the standard prepared to a small extent. However, in certain cases, CV_{RT} was greater than CV_{Exp} , and, consequently, it was the main source of the inaccuracy of the calibration of the equipment. If the preparation of standard solutions is based on mass measurement, then this source of uncertainty can be eliminated.

The uncertainty of the purity of the reference materials only contributed to the uncertainty of the concentration of the stock solution. The uncertainty of a measurement with an accuracy of 0.01 mg is orders of magnitude lower than that of the volumetric flasks used for weighing, therefore, the accuracies and uncertainties of dilutions carried out in several steps are practically not affected by it.

It should be noted that balances with an accuracy of 0.1 mg cannot be used for the preparation of standard solutions as described in Chapter 2.

8. Recommendations

Our results clearly show that standard solutions can be prepared with much greater accuracy by using mass measurement of 0.01 mg accuracy up until the last step, where concentrations expressed in g/g before have to be expressed in g/ml units, since μl quantities of standard solutions and samples are injected into the chromatographic systems.

The use of more accurate balances is not justified, because measurements with an accuracy of 0.01 mg practically do not influence the accuracy of the standard solutions prepared and the uncertainty of the nominal concentration.

Standard solutions should be prepared in as few steps as possible, and the final volume should be adjusted in class A or individually calibrated volumetric flasks.

Even with the most careful work, measurement errors can still occur, modifying the actual concentration of the standard solution to an unknown extent. To eliminate the effect of a possible measurement error, it is advisable to prepare the stock solution and the intermediate standards used for further dilutions (e.g., A6, B3) in duplicate, using independent weighings. If the difference in the detected signals of 0.002 $\mu\text{g/ml}$ or 0.005 $\mu\text{g/ml}$ solutions prepared from these is smaller than the value determined by the quality manual of the laboratory (e.g., 5%), then the two solutions are combined and used for further dilutions, calculating with the nominal concentration. If the difference is greater, then preparation of a third solution is necessary. After examination of the three results, the two solutions showing the smaller difference are combined and the solution obtained is used for further measurements.

Standard solutions prepared according to the above can be used to monitor the stability of the components of solutions prepared earlier. According to the instructions of DG SANTE, the old standard can be used if the difference between the concentrations of the old and new solutions is $<10\%$.

9. Acknowledgement

The conscientious and precise work of our colleagues, Dávid Csatai, Orsolya Mező-Presszer, Judit Radicsné Oros, Fruzsina Szabó and András Varga is greatly appreciated by the authors.

10. References

- [1] DG SANTE (2015): Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed. SANTE/11945/2015 http://ec.europa.eu/food/plant/docs/plant_pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_11945_en.pdf (Acquired: 23. 09. 2016)
- [2] Ambrus Á, Vásárhelyi A. (2016): Növényvédőszer-maradékok vizsgálata Magyarországon 1967-2016, Pesticide residue analysis in Hungary between 1967-2016, Élelmiszervizsgáló Közlemények LXII. 1. 919-942.
- [3] Ellison S.L.R, Williams A. eds. (2012): EURACHEM/CITAC guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement 3rd ed. Available from www.eurachem.org
- [4] Lide D, R. (ed) (2007-2008): CRC Handbook of Chemistry and Physics 88th ed., Boca Raton



A kép illusztráció / Picture is for illustration only
Fotó/Photo: Tolokán Adrienn

Kemenczei Ágnes¹, Maczó Anita¹, Kiss Anna¹

Érkezett: 2016. december – Elfogadva: 2017. február

A chiamag mint új élelmiszer

Kulcsszavak: chiamag, aztékszálya mag, allergizáló hatás, új élelmiszer az Európai Unióban

1. Összefoglalás

Napjaink egyik közkedvelt terméke az aztékszálya magja, vagy közismertebb nevén chiamag. Népszerűségének oka gazdag tápanyag tartalma, illetve a fogyasztásához társított egészségre gyakorolt kedvező hatásai. Az aztékszálya (*Salvia hispanica* L.) azték és maja civilizációk egyik alapvető terménye volt, különleges tápanyagtartalma miatt élelmiszerként történő fogyasztása mellett a gyógyászatban is használták. A chiamag fogyasztása napjainkban ismét reneszánszát éli, többek között az USA-ban, Kanadában és Ausztráliában már több mint nyolc éve használják élelmiszer-összetevőként potenciális, egészségre gyakorolt jótékony hatásai miatt. A chiamag fehérje-, essenciális zsírsav-, és rosttartalma kiemelkedő, valamint kiváló természetes antioxidáns forrás. Az aztékszályamag az Európai Unióban „új élelmiszernek” minősül, forgalmazásának és üzleti célú felhasználásának szigorú feltételei vannak. Az Európai Bizottság Egészségügyi és Élelmiszerbiztonsági Főigazgatósága (Directorate-General For Health and Food Safety, DG SANTE) 2009-ben hagyta jóvá a chiamag élelmiszer-összetevőként történő felhasználását, amelynek feltételeit 2013-ban, 2014-ben és 2015-ben módosította. Napi 15 grammnál több fogyasztása azonban emésztőrendszeri problémákat okozhat, ezért erre az Európai Unióban a vásárlót figyelmeztetni kell. Fogyasztásakor továbbá figyelembe kell venni potenciális allergizáló hatását is. A chiamag fogyasztásának pozitív hatásai napjainkban még nem nyertek bizonyítást, az élelmiszeriparban betöltött jövőbeli szerepére vonatkozóan további kutatások szükségesek.

1. Bevezetés

Napjaink egyik közkedvelt terméke az aztékszálya magja, vagy közismertebb nevén chiamag. Népszerűségének oka gazdag tápanyag tartalma, illetve a fogyasztásához társított egészségre gyakorolt kedvező hatásai. Az egészséges táplálkozást népszerűsítő weboldalakon már-már gyógyító hatásáról is olvashatunk. Testsúlycsökkentő diéták elengedhetetlen kellékévé vált. De vajon megalapozottan örvend ekkora népszerűségnek? Cikkünkben arra keressük a választ, hogy fogyasztásával bizonyítottan jótékony hatást gyakorol-e az emberi egészségre, illetve van-e valamilyen esetleges nemkívánatos hatása.

2. A chia növény általános jellemzői

Az aztékszálya (*Salvia hispanica* L.) az ajakosvirágúak (*Lamiales*) rendjébe és az árvacsalánfélék (*Lamia-*

ceae) családjába tartozó egyházi növény, amely Mexikó déli részén és Guatemala északi részén őshonos [19].

Az aztékszálya az azték és maja civilizációk egyik alapvető terménye volt, mivel a benne lévő tápanyagoknak köszönhetően hasznos energia és tápanyagforrásként szolgáltak. A kukorica és a bab után a harmadik legfontosabb gazdasági növényük volt, élelmiszerekben és gyógyászati célokra is használták [14]. Egyes történelmi források szerint az Azték-Birodalomban aztékszályamagban is fizettek járandóságot és bizonyos vallási szertartásoknak is fontos eleme volt [17]. A spanyol gyarmatosítást követően azonban a termesztése hanyatlani kezdett. A chia növény virágai különböző színűek lehetnek, az egészen világostól a sötétkélig vagy liláig változhatnak. A növény apró magjai lehetnek fehér vagy sötét színűek, azonban a napjainkban kereskedelmi célból

¹ Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal

termesztett chiamagok jelentős része sötét színű. Alakjuk ovális és általában a fehér magok nagyobbak, mint a sötétek [17].

2.1. A chiamag felhasználásának lehetőségei

A chiamag egészséges táplálkozásban és terápiás lehetőségekben rejlő hatásai kevésbé ismertek, szakirodalmi adatok szerint felhasználása remek jövőbeli perspektívát nyújthat a takarmányozásban, továbbá az élelmiszeripari és gyógyszeripari ágazatok számára egyaránt. Nagy népszerűségnek örvend, élelmiszer összetevőként már Mexikó, Argentína, Chile, USA, Kanada, Japán, Új-Zéland, Ausztrália egyes részein használják. Az Európai Bizottság Egészségügyi és Élelmiszerbiztonsági Főigazgatósága (Directorate-General For Health and Food Safety, DG SANTE) 2009-ben hagyta jóvá a chiamag élelmiszer-összetevőként történő felhasználását, melyet 2013-ban, és 2014-ben kibővítettek. Európában jelenleg pékárukban, reggeli gabonapelyhekben, valamint gyümölcs-, csonthéjas- és magkeverékekben legfeljebb 10%-nyi mennyiségben, továbbá a (pasztőrözött) magot törve vagy őrölve gyümölcslevekhez és gyümölcsitalkeverékekhez legfeljebb 15g/450 ml mennyiségben engedélyezik a felhasználását. Európán kívül többek között étrend-kiegészítők gyártásában, csíráként salátákban, a magot pedig italokban és gabona alapú élelmiszerekben dolgozzák fel például az USA-ban. Mexikóban, Ausztráliában és Ázsiában elsősorban étrend-kiegészítők és gabona alapú élelmiszerek összetevőjeként használják [5].

2.2. A chiamag piaca az Európai országokban

Európába 2012-ben megközelítőleg 3,5 ezer tonna (5,9 millió euró értékű) chiamagot importáltak, míg 2015-ben ez az érték már 12 ezer tonna volt (26 millió euró értékben). A három legnagyobb chiamag-beszállító Paraguay (34%), Argentína (23%) és Bolívia (21%). Európában Németország a legnagyobb chiamag importőr, őt követi Hollandia, az Egyesült Királyság és Spanyolország. A fent említett négy importőr európai ország chiamag fogyasztása nem arányos az import mértékével, mivel nem csupán saját piacokra értékesítenek, hanem gyakran tovább exportálják a terméket más európai országokba [8].

1. táblázat. Az aztékszálamag tipikus összetétele [3]
Table 1 Typical composition of *Salvia hispanica* [3]

Szárazanyag / Dry matter	91–96 %
Fehérje / Protein	20–22 %
Zsír / Fat	30–35 %
Szénhidrát / Carbohydrate	25–41 %
Élelmi rost / Dietary fiber	18–30 %
Hamu / Ash	4–6 %

A chiamag egyre növekvő népszerűségének oka, hogy a fogyasztók „egészségesebben” szeretnék táplálkozni. A chiamag beltartalmi értékeinek köszönhetően megfelel a fogyasztók ilyen irányú törekvésének és illeszkedik a „free from” trendbe. Mind a vegetáriánus és vegán étrendet követők, mind a gluténérzékenységben szenvedőknek kitűnő lehetőséget nyújt a chiamag fogyasztás.

3. A chiamag táplálkozástudományi vonatkozásai

3.1. Tápanyagtartalom

A chiamag tápanyagtartalma széles határok között mozog. Fehérje-, zsír-, szénhidrát-, és rosttartalma az egyik hivatkozott forrás szerint 15-25%, 30-33%, 26-41%, 18-30% között változhat [13]. Szárazanyag tartalma 90-93%, hamutartalma pedig 4-5%. A chiamag beltartalmi értékei közül a szénhidrát, fehérje, omega-3-zsír, rost, antioxidáns és kalciumtartalma emelhető ki. Az 1. táblázat az aztékszálamag tipikus összetételét mutatja be.

Főleg fehérje- és zsírsavtartalmának köszönhetően válhat az egészséges táplálkozás alkotórészévé. Közel 20%-nyi fehérjetartalmának és jelentős esszenciális aminosav-tartalmának köszönhetően alkalmas lehet a fehérje-energia alutápláltság megelőzésére és helyreállítására. Fehérjetartalmát azonban környezeti és agronómiai tényezők nagymértékben befolyásolják.

3.1.1. Zsírsavtartalom

A chia azok közé a növények közé tartozik, amelyek nagyobb koncentrációban tartalmaznak esszenciális zsírsavakat. A chiaolaj fogyasztásának kardioprotektív hatást tulajdonítanak magas omega-3-, omega-6-, és nagyobb, többszörösen telítetlen zsírsav tartalma miatt [15]. A chiamag olaját omega-3-zsírsav tartalmú étrend-kiegészítők gyártásában, továbbá préselt olaját zsírok és olajok összetevőjeként használják fel legfeljebb 10%-os tartalommal [4]. A nagyobb omega-3-zsírsav-tartalma segíthet a diszlipidémia helyreállításában, ezáltal alkalmassá teheti a szív- és érrendszerben szenvedők étrendjében való felhasználására [5].

3.1.2. Rosttartalom

A rost az emberi egészségre gyakorolt pozitív hatásai révén különösen fontos növényi komponens. A chiamag élelmi rosttartalma 18-30%. A magok vízfelvétel közben jelentős mértékben kocsnyás, géles állagúvá duzzadnak a mag tömegének 4-6%-át alkotó vízoldható anionos heteropoliszacharid (molekulatömege: 800–2000 kDa) vízmegkötő képessége miatt. Ez a poliszacharid a mag héjában található, oldható rostok forrása [9], [19]. Rosttartalma nagyobb a quinoa és az amaránt rosttartalmánál. Ez a magas rosttartalom a diabétesz prevenciójában játszhat szerepet egyes epidemiológiai tanulmányok eredményei szerint [5], azonban túlzott fogyasztása esetén a magas rosttartalom emésztőrendszeri problémákat okozhat, ezért napi 15 grammnál nem ajánlott többet fogyasztani.

3.2. Fitokemikáliumok a chiamagban

A chiamag az antioxidánsok kiváló forrása, a mag-kivonat teljes polifenol tartalma 8,8%. A kávéssav, klorogénsav és quercetin előfordulása a fenolok nagyobb mértékével korrelálhat [16]. Ezeknek az antioxidánsoknak antikarcinogén, antihipertenzív és neuron protektív hatást tulajdonítanak. A chiamag *in vitro* antioxidáns aktivitását több kutatás is vizsgálta, amelyek egybehangzó eredménye szerint a chiamagban található polifenolok a szabad gyökfogó-képessége nagyobb más, természetes antioxidáns forrásokhoz hasonlítva [5], [19]. A chiamagban található polifenolok lehetséges lipid peroxidációt gátló hatását Tepe eredményei támasztják alá [18].

3.3. A chiamag potenciális allergén hatása

Az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság (EFSA) 2005-ben felhívta a figyelmet a chiamag esetleges allergizáló hatására [10], különösen a szezámagra és mustárra érzékenyek esetében. Az allergén kockázat veszélye miatt jelenleg is indokolt ennek további vizsgálata, valamint javasolt a chiamagot tartalmazó termékek címkéjén az allergén tartalomra figyelmeztető felirat [11].

3.4. A chiamag egészségre gyakorolt hatását vizsgáló, humán vonatkozású kutatások

A chiamag egészségre gyakorolt hatását vizsgáló, humán vonatkozású kutatásokról csekély számú forrásmunka állt rendelkezésünkre [7]. E kutatások többsége a chiamag fogyasztás testtömeg-csökkenésben betöltött szerepét, az immunrendszerre, valamint a kettes típusú diabetes mellitusban szenvedő betegek kezelésében gyakorolt hatását vizsgálja. Egy, 100 férfi és nő (21-65 év közötti) bevonásával készült kutatásban a chiamag fogyasztás immunrendszer erősítésében betöltött szerepét vizsgálták. A résztvevőket négy csoportra osztották, melyekben különböző mennyiségű chiamagot tartalmazó reggelit fogyasztottak. Az első csoport 2,5 g chiamagot, a

második csoport 5 g chiamagot, a harmadik csoport 10 g chiamagot tartalmazó reggelit fogyasztott négy héten keresztül minden nap. A negyedik, kontroll csoport 4 g napraforgó magot fogyasztott naponta. A chiamag egészségre gyakorolt hatásainak elemzése során a résztvevők vérmintáit vizsgálták (lipid profil, limfocita készlet) a kutatás előtt és után, amelyhez antropometriai adatok felvétele, valamint életmód- és élelmiszerfogyasztási kérdőív kitöltése társult. Az eredmények még a legnagyobb dózisban (10 g) fogyasztott chiamag esetében sem mutattak releváns egészségügyi hatást [1]. Egy másik, kis elemszámú, kutatás kettes típusú diabetes mellitusban szenvedő betegek bevonásával készült, akiknek 12 héten keresztül 25g/1000 kcal volt a chiamag-bevitelük. A vizsgálati idő elteltével a betegek körében a szisztolés vérnyomás csökkenését tapasztalták a kontroll csoporttal összehasonlítva. Vérzsír paraméterek, májenzimek, és vesefunkciók tekintetében azonban nem találtak szignifikáns különbséget [21].

4. A chiamag forgalmazásának jogi szabályai az Európai Unióban

A chiamag az Európai Unióban új élelmiszernek minősül. Azokat az élelmiszereket nevezzük új élelmiszernek, melyeket 1997. május 15-e előtt nem fogyasztottak jelentős mértékben az Európai Unió területén és a 258/97 EK rendelet 1. Cikk (2) bekezdésében található kategóriák valamelyikébe tartozik [6]. Az új élelmiszerek engedélyezését az Európai Bizottság Egészségügyi és Élelmiszerbiztonsági Főigazgatósága (Directorate-General For Health and Food Safety, DG SANTE) végzi a tagállamok szoros közreműködésével. Az aztékszálamag- és magőrlemény új élelmiszer-összetevőként való forgalomba hozatalára irányuló első kérelmet 2003-ban nyújtották be az Egyesült Királyság illetékes hatóságához (Food Standard Agency, FSA). Az FSA 2004-ben készítette el az elsődleges biztonsági értékelését, melyet az Európai Bizottság véleményezésre tovább küldött a tagállamok számára. A tagállamok indokolt biztonsági kifogást emeltek a termék forgalomba hozatala ellen, ezért a Bizottság további értékelésre megküldte a kérelmet az EFSA számára. Az EFSA megfelelő információk hiányában 2005-ben nem vont le következtetést a biztonságossággal kapcsolatban, és további információkat kért a kérelmezőtől. 2009-ben adta ki második véleményét az aztékszálamag (Salvia hispanica) és magőrlemény, mint élelmiszer-összetevő biztonságosságáról, amelyben megerősítette, hogy az aztékszálamag pékárukban történő, az akkori engedélykérelemben megadott feltételek melletti használatának valószínűleg nincs káros hatása az emberi egészségre. Az EFSA véleménye alapján az Európai Bizottság a tagállamok egyetértésével a 2009/827/EK Bizottsági határozatban engedélyezte az aztékszálamag (Salvia hispanica) új élelmiszer-összetevőként történő forgalomba hozatalát pékárukban legfeljebb 5%-os aztékszálamag (Salvia hispanica) tartalommal [2]. 2011-ben egy másik kérelmező a chiamag felhasználásának kibővítésére

irányuló kérelmet nyújtott be az EFSA-hoz, melyről 2013-ban született Bizottsági határozat (2013/50/EU). Ez a határozat szélesebb termékkörben (a pékárukon kívül reggeli gabonapelyhekben, valamint gyümölcs-, csonthéjas- és magkeverékekben) engedélyezte az aztékszálamag felhasználását nagyobb (10%-os) arányban. Lehetővé tette továbbá kizárólag előrecsomagolt formában az aztékszálamag közvetlen értékesítését is, azzal a feltétellel, hogy annak címkéjén tájékoztatást kell adni a fogyasztók számára arról, hogy a napi bevétel legfeljebb 15 gramm lehet (a felhasználás lehetőségének első kibővítése). 2014-ben a 2014/890/EU határozattal engedélyezték az aztékszálamag olaj új élelmiszer-összetevőként történő felhasználását, 2015-ben pedig az aztékszálamag felhasználásának lehetősége újabb termékkörrel bővült. Szigorú speciális intézkedések mellett (pasztörözés, mikrobiológiai ellenőrzési rendszer, információ esetleges allergén reakciók jelentésének módjáról, fulladásveszélyt kiküszöbölő feldolgozási technológia és csomagolási mód) engedélyezték az aztékszálamag felhasználását gyümölcslevekben és gyümölcsleves-keverékekben is [3], [4], [12].

4.1. A chiamag forgalmazásának és üzleti célú felhasználásának feltételei

Az Európai Bizottság által a 258/97 EK rendelet szerint kiadott új élelmiszer engedélyező határozatok névre szólóak, így az Európai Unió területén csak az hozhat forgalomba chiamagot, vagy chiamag tartalmú terméket, aki rendelkezik a Bizottság által kiadott határozattal, tagállami engedélyező döntéssel (abban az esetben, ha nem merült fel biztonsági kifogás a kérelemmel kapcsolatban), vagy szerepel a Bizottság notifikációs listáján. A határozatok értelmében az aztékszálamag új élelmiszer-összetevőként

történő forgalmazásának és üzleti célú felhasználásának feltételei közé tartozik, hogy az aztékszálamag a fogyasztók számára önmagában kizárólag előrecsomagolt formában értékesíthető, kimérve, azaz lédig termékként árusítása nem megengedett. Az aztékszálamagot tartalmazó termék jelölésén fel kell tüntetni a javasolt napi bevétel mennyiségét, amely legfeljebb 15 gramm lehet. Ezen túl a termékek címkéjén szerepelnie kell az „aztékszálamag (*Salvia hispanica*)” feliratnak, valamint összetevőként is ezen a néven kell feltüntetni a felhasznált anyagok csökkenő mennyiségi sorrendjében. Az aztékszálamag élelmiszer-összetevőként a következő termékekben szerepelhet: pékáru, reggeli gabonapely, valamint gyümölcs-, csonthéjas- és magkeverékek. E termékek legfeljebb 10%-nyi mennyiségben tartalmazhatnak chiamagot. Teljes aztékszálamag törve, vagy őrölt formában gyümölcslevekhez és gyümölcsital-keverékekhez legfeljebb 15g/450 ml mennyiségben adható hozzá [3] [12].

A 2. táblázatban összegyűjtöttük az Európai Unió piacán fellelhető chiamag tartalmú élelmiszereket engedélyezési státuszuk szerinti csoportosításban.

5. Összegzés és jövőbeli perspektívák

A chiamagfogyasztás egészségre gyakorolt jótékony hatását főként a magas fehérje- és esszenciális zsírsavtartalmának tulajdonítják. Ezekre a hatásokra irányuló humán kutatások legtöbb esetében nem igazoltak kimutatható egészségügyi hatást. Az egészségre gyakorolt kedvező hatás teljes körben való igazolásához tehát még további vizsgálatok indokoltak, ahogyan a chiamaggal dúsított élelmiszerek esetében is.

2. táblázat. Chiamag tartalmú termékek engedélyezési státusza
Table 2 Authorization status of chia seed containing products

Engedélyezett termékek Authorized products	Nem engedélyezett termékek Unauthorized products
Joghurtok a fedélben külön csomagolt chia és egyéb magok keverékével Yogurts with chia and other seeds separately packaged in the lid	Chia zselé vagy pudingok Chia gel or pudding
Termékek, melyeknél a chiamag külön van csomagolva az aktuális terméktől pl. a fedélben Products with separately packaged chia seeds, for example, in the lid	Chiamagot tartalmazó krémes desszertek Creamy desserts containing chia seeds
Chiamagot tartalmazó zabpehely Oatmeal containing chia seed	Hozzáadott chiamagot tartalmazó tea alapú italok Tea-based beverages containing added chia seeds
Gyümölcsleves alapú chia turmix Fruit juice based chia smoothie	Chiamagot tartalmazó rizs ital Rice drinks containing chia seeds
Chia olaj tartalmú étrend-kiegészítők Dietary supplements containing chia oil	Chiamag, roló töltelékeként Chia seeds as roll fillings
Chia olajat legfeljebb 10%-ban tartalmazó zsírok és olajok Fats and oils containing up to 10% chia oil	Chiamag salátákban csomagolva vagy felszolgálva Chia seeds packaged or served in salads
	Chiamag értékesítése kimérve, lédig termékként Chia seeds sold in bulk

6. Irodalom

- [1] Advisory committee for novel foods and processes (2004): Opinion on an application under the novel foods regulation for chia (*Salvia hispanica* L).
- [2] A Bizottság Határozata (2009. október 13.) az aztékszálamagnak (*Salvia hispanica*) a 258/97/EK európai parlamenti és tanácsi rendelet szerinti új élelmiszer-összetevőként való forgalomba hozatala engedélyezéséről
- [3] A Bizottság Végrehajtási Határozata (2013. január 22.) az aztékszálamag (*Salvia hispanica*) tekintetében a 258/97/EK európai parlamenti és tanácsi rendelet szerinti, új élelmiszer-összetevőként való felhasználás kibővítésének engedélyezéséről
- [4] A Bizottság Végrehajtási Határozata (2014. december 8.) az aztékszálamag-olajnak (*Salvia hispanica*) a 258/97/EK európai parlamenti és tanácsi rendelet szerinti új élelmiszer-összetevőként való forgalomba hozatala engedélyezéséről
- [5] Ali, N. M., Yeap, S. K., Ho, W. Y., Beh, B. K., Tan, S. W., Tan, S. G. (2012): The Promising Future of Chia *Salvia hispanica* L. *J Biom Biotechnol.* pp.1-9. doi:10.1155/2012/171956
- [6] Az Európai Parlament és a Tanács 258/97/EK rendelete az új élelmiszerekről és az új élelmiszer-összetevőkről
- [7] Bresson JL, Flynn A, Heinonen M, et al (2009): Opinion on the safety of Chia seeds (*Salvia hispanica* L.) and ground whole Chia seeds, as a food ingredient. *J Eur Food Safety Authority.* 996 pp.1–26.
- [8] CBI Ministry of Foreign Affairs (2016): Exporting chia seeds to Europe. <https://www.cbi.eu/node/2088/pdf/> (Hozzáférés: 2016. 08. 30.)
- [9] Chapter Two – Chia (*Salvia hispanica*): A Review of Native Mexican Seed and its Nutritional and Functional Properties. In: *Advances in Food and Nutrition Research*, Vol. 75 pp. 53-75.
- [10] EFSA (2005): Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission related to the safety of chia (*Salvia hispanica* L.) seed and ground whole chia seed as a novel food ingredient intended for use in bread. *EFSA J* 278:1–12.
- [11] EFSA (2009): Scientific Opinion of the Panel on Dietetic Products Nutrition and Allergies on a request from the European Commission

on the safety of Chia seed (*Salvia hispanica*) and ground whole Chia seed' as a food ingredient. *EFSA J* 996:1–2

- [12] https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/novel-food_authorisation_2015_auth-letter_chia-seeds-2_en.pdf (Hozzáférés: 2016. 09. 23.)
- [13] Ixtaina VY, Nolasco SM, Tomas MC (2008): Physical properties of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. *Ind Crop Prod.* 28(3) pp. 286–293.
- [14] Ixtaina, V., Vega, A., Nolasco, S. M., Tomás, M. C., Gimeno, M., Bázana, E., Tecante, A. (2010): Supercritical carbon dioxide extraction of oil from Mexican chia seed (*Salvia hispanica* L.): Characterization and process optimization. *J. of Supercritical Fluids.* 55 pp. 192–199.
- [15] Peiretti, P. G., Gai, F. (2009): Fatty acid and nutritive quality of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds and plant during growth. *AnimFeed Sci Technol.* 148(2–4) pp. 267–275.
- [16] Reyes-Caudillo, E., Tecante, A., Valdivia-Lopez, M. A. (2008) Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. *Food Chem* 107(2):656–663
- [17] Segura-Campos, M.R., Ciau-Solís, N., Rosado-Rubio, G., Chel-Guerrero, L., Betancur-Ancona, D. (2014): Physicochemical characterization of chia (*Salvia hispanica*) seed oil from Yucatán, México. *Agricultural Sciences.* 5(3) pp. 220-226.
- [18] Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, A. H., Sokmen, A. (2006): Screening of the antioxidant activity of six salvia species from Turkey. *Food Chem* 95. pp. 200–204.
- [19] Timilsena, Y. P., Adhikari, R., Kasapis, S., Adhikari, B. (2015): Rheological and microstructural properties of the chia seed polysaccharide. *International Journal of Biological Macromolecules.* 81 pp. 991–999.
- [20] Ullah, R., Nadeem, M., Khaliq, A., Imran, M., Mehmood, Javid, A., Hussain J. (2016): Nutritional and therapeutic perspectives of Chia (*Salvia hispanica* L.): a review. *J Food Sci Technol.* 53(4) pp. 1750-1758.
- [21] Vuksan, V., Whitham, D., Sievenpiper, J. et al., (2007): Supplementation of Conventional Therapy With the Novel Grain Salba (*Salvia hispanica* L.) Improves Major and Emerging Cardiovascular Risk Factors in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care.* 30(11) pp. 2804-2810.

Ágnes Kemenczei¹, Anita Maczó¹, Anna Kiss¹

Received: 2016. December – Accepted: 2017. February

Chia seeds as a novel food

Keywords: chia seed, salvia hispanica seed, allergizing effect, novel food in the European Union

1. Summary

One of today's popular products is the seed of *Salvia hispanica*, more commonly known as chia seeds. Its popularity stems from its high nutrient content, and also from the beneficial health effects associated with its consumption. *Salvia hispanica* was one of the staple crops of the Aztec and Mayan civilizations and, in addition to being consumed as a food, it was also used in medicine because of its special nutrient content. These days chia seed consumption is experiencing a renaissance again, for example, in the USA, Canada and Australia, it has been used for more than eight years as a food ingredient, because of its potentially beneficial health effects. The protein, essential fatty acid and fiber contents of chia seed are outstanding, and it is an excellent natural source of antioxidants. Chia seeds are classified as a "novel food" in the European Union, so there are strict conditions for its marketing and use for business purposes. The use of chia seeds as a food ingredient was approved by the Directorate-General For Health and Food Safety (DG SANTE) in 2009, the conditions of which were modified in 2013, 2014 and 2015. However, consumption of more than 15 grams a day can cause gastrointestinal malfunctions, therefore, in the European Union, consumers have to be warned about this. In addition, its potential allergizing effect also has to be taken into consideration when consuming it. Today, the positive effects of chia seed consumption have not yet been proved, and further research is needed regarding its future role played in the food industry.

2. Introduction

One of today's popular products is the seed of *Salvia hispanica*, more commonly known as chia seeds. Its popularity stems from its high nutrient content, and also from the beneficial health effects associated with its consumption. At websites promoting a healthy diet, one can almost read about its healing powers. It became an essential part of weight-loss diets. But is its popularity justified? In this article we seek to find the answer to the question whether its consumption has beneficial health effects, or whether it has any potential adverse effects.

2. General characteristics of the chia plant

Salvia hispanica L. is an annual plant belonging to the order *Lamiales*, family *Lamiaceae*, native to southern Mexico and northern Guatemala [19].

Salvia hispanica one of the staple crops of the Aztec and Mayan civilizations, since it served as a useful source of energy and nutrients, due to its nutrient content. After corn and beans, it was their third most important crop, and was used both in foods and for medicinal purposes [14]. According to some historical sources, payments were made in chia seeds in the Aztec Empire, and it was also an important element of certain religious ceremonies [17]. However, after the Spanish colonization, its cultivation started to decline. Flowers of the chia plant can be of different colors, ranging from very light to dark blue or purple. The tiny seeds of the plant can be white or dark in color, but most of the chia seeds cultivated today for commercial purposes are dark colored. They have an oval shape and, generally, white seeds are larger than dark ones [17].

2.1. Possible uses of the chia seed

Potential uses of the chia seed in healthy nutrition and therapeutic options are less well known, but according to literature data, its application as a feedstock may provide a great future perspective, and it could be useful in the food and pharmaceutical sectors as well. It is largely popular, and is used as a food ingredient in certain parts of Mexico, Argentina, Chile, the USA, Canada, Japan, New Zealand and Australia. The use of chia seeds as a food ingredient was approved by the Directorate-General For Health and Food Safety (DG SANTE) in 2009, and this was extended in 2013 and 2014. Currently, in Europe it can be used in pastries, breakfast cereals and fruit, stone fruit and seed mixes in amounts up to 10%, and the (pasteurized) seed can be used in fruit juices and fruit drink mixes in a crushed or ground form in amounts up to 15 g/450 ml. Outside Europe, it is used in the manufacture of dietary supplements, in salads as sprouts, and processed in beverages and cereal-based foods, for example, in the USA. In Mexico, Australia and Asia, it is primarily used as an ingredient of dietary supplements and cereal-based foods [5].

2.2. The chia seed market in European countries

Approximately 3.5 thousand tons of chia seed (with a value of 5.9 million Euros) was imported into Europe in 2012, while in 2015 the amount was already 12 thousand tons (with a value of 26 million Euros). The three largest suppliers of chia seed are Paraguay (34%), Argentina (23%) and Bolivia (21%). The biggest chia seed importer in Europe is Germany, followed by the Netherlands, the United Kingdom and Spain. The chia seed consumption of the above-mentioned four importing countries is not proportional to the amounts imported, because they sell not only on their own markets, but frequently export the product further to other European countries [8].

The increasing popularity of chia seed is due to the fact that consumers wish to eat "healthier". Thanks to its nutritional values, chia seed meets these aspirations of consumers, and it also fits the "free from" trend. Chia seed consumption provides an excellent opportunity to people following a vegetarian or vegan diet, and it is also suitable for people suffering from celiac disease.

3. Nutritional aspects of the chia seed

3.1. Nutrient content

The nutrient content of the chia seed varies widely. According to one of the sources cited, the protein, fat, carbohydrate and fiber contents of the chia seed are in the range of 15-25%, 30-33%, 26-41% and 18-30%, respectively [13]. Its dry matter content is

90-93%, the ash content is 4-5%. Of the nutritional values of the chia seed, the carbohydrate, protein, omega-3 fatty acid, fiber, antioxidant and calcium contents can be highlighted. The typical composition of *Salvia hispanica* is presented in **Table 1**.

Chia seeds can become part of a healthy diet mainly because of their protein and fatty acid contents. Due to their nearly 20% protein content and significant essential amino acid content, they can be suitable for the prevention and recovery of protein-energy malnutrition. However, their protein content is significantly influenced by environmental and agronomic factors.

3.1.1. Fatty acid content

Chia is one of those plants that contain essential fatty acids in higher concentrations. Cardioprotective effects are attributed to chia oil consumption, due to its omega-3, omega-6 and larger polyunsaturated fatty acid contents [15]. The oil of the chia seed is used in the manufacture of omega-3 containing dietary supplements, and its pressed oil is used as an ingredient of fats and oils, in amounts up to 10% [4]. Its higher omega-3 fatty acid content can help in the recovery from dyslipidemia, therefore, it can be suitable for use in the diet of people suffering from cardiovascular diseases [5].

3.1.2. Fiber content

Fiber is a particularly important plant component due to its positive effects on human health. The dietary fiber content of the chia seed is 18-30%. When absorbing water, the seeds swell significantly to a gelatinous consistency, because of the water binding ability of the water-soluble anionic heteropolysaccharide (with a molecular weight of 800–2000 kDa), making up 4 to 6% of the mass of the seed. This polysaccharide is the source of the soluble fibers found in the husk of the seed [9], [19]. Its fiber content is higher than the fiber content of quinoa and amaranth. According to the results of certain epidemiological studies, this high fiber content can play a role in the prevention of diabetes [5], however, excessive consumption can lead to gastrointestinal problems, therefore, it is not recommended to consume more than 15 grams a day.

3.1.3. Phytochemicals in the chia seed

Chia seed is an excellent source of antioxidants, the total polyphenol content of the seed extract is 8.8%. The occurrence of caffeic acid, chlorogenic acid and quercetin could correlate to the higher amounts of phenols [16]. Anticarcinogenic, antihypertensive and neuron protective effects are attributed to these antioxidants. The *in vitro* antioxidant activity of the chia seed was examined in several studies, and the results consistently showed that the free radical scavenging

¹ National Food Chain Safety Office

abilities of the polyphenols found in the chia seed is larger, compared to other sources of natural antioxidants [5], [19]. The potential peroxidation inhibiting effects of the polyphenols found in the chia seed are supported by the results of Tepe [18].

3.1.4. Potential allergenic effect of the chia seed

In 2005, the European Food safety Authority (EFSA) drew attention to the possible allergenic effect of the chia seed [10], particularly in the case of people sensitive to sesame seeds and mustard. Because of the allergy risk, further studies are still warranted, and it is recommended to indicate the allergen content on the labels of products containing chia seed [11].

3.1.5. Human studies investigating the health effects of the chia seed

There is only a limited amount of source materials available about human studies regarding the health effects of the chia seed [7]. Most of these studies investigate the role of chia seed consumption in weight reduction, or its effects on the immune system or in the treatment of people suffering from type two diabetes mellitus. In a research involving 100 men and women (between the ages of 21 and 65), the role of chia seed consumption in strengthening the immune system was investigated. Participants were divided into four groups and they consumed breakfasts containing different amounts of chia seeds. Breakfasts containing 2.5 g of chia seeds were consumed each day by the first group for four weeks, while the breakfasts of the second and third group contained 5 g of chia seeds and 10 g of chia seeds, respectively. 4 g of sunflower seeds was consumed by the fourth group, the control group, each day. When testing the health effects of the chia seed, blood samples of the participants were analyzed before and after the experiment (lipid profile, lymphocytes), which was accompanied by the registration of anthropometric data, as well as the filling out of a questionnaire on lifestyle and food consumption. No relevant health effect was demonstrated by the results even in the case of the largest dose (10 g) chia seed consumption [1]. In another study, involving a small number of people suffering from type two diabetes mellitus, the chia seed intake was 25 g/1000 kcal for 12 weeks. After the test period, a decrease in the systolic blood pressure was observed among the patients, compared to the control group. However, there was no significant difference in terms of blood lipid parameters, liver enzymes or renal functions [21].

4. Legal regulation of chia seed distribution in the European Union

In the European Union, chia seed is considered novel food. Novel foods are foods that had not been consumed in the European Union in significant amounts before May 15, 1997, and fall under one of the categories of paragraph (2) of Article 1, of regulation

(EC) No 258/97 [6]. Authorization of novel foods is performed by the Directorate-General For Health and Food Safety (DG SANTE), in close cooperation with member states. The first request for the marketing of chia seed and ground seed as a novel food ingredient was submitted to the relevant authority of the United Kingdom (Food Standard Agency, FSA) in 2003. The primary safety assessment was performed by the FSA in 2004, and it was forwarded by the European Commission to member states for delivering their opinions. A justified safety objection was raised by the member states against the marketing of the product, therefore, the request was sent by the Commission to EFSA for a further evaluation. In the absence of the necessary information, no conclusion regarding the safety was drawn by EFSA, and further information was requested from the applicant. A second opinion was issued in 2009 about the safety of *Salvia hispanica* and ground seed as a food ingredient, in which it was confirmed that the use of *Salvia hispanica* in bakery products, under the conditions listed in the request for authorization, is not likely to have adverse effects on human health. Based on the opinion of EFSA, in agreement with the member states, the marketing of *Salvia hispanica* as a novel food ingredient in bakery products, with a *Salvia hispanica* content of no more than 5%, was authorized by the European Commission in Commission Decision 2009/827/EC [2]. In 2011, an application for the extension of chia seed use was submitted to EFSA by another applicant, about which Commission Decision 2013/50/EU was born in 2013. It allowed the use of chia seed in a broader product range (in breakfast cereals, as well as fruit, stone fruit and seed mixes, in addition to bakery products) in larger proportions (10%). It also allowed direct selling of chia seed exclusively in a pre-packaged form, with the condition that the label should contain the information for consumers that the daily intake cannot exceed 15 grams (first extension of possible applications). In 2014, with Commission Decision 2014/890/EU the use of chia oil as a novel food ingredient was authorized, and in 2015 the possible applications of *Salvia hispanica* were extended to a new product range. Under strict special measures (pasteurization, microbiological control system, information about how to report potential allergic reactions, processing technologies and packaging methods eliminating choking hazards), the use of *Salvia hispanica* in fruit juices and fruit drink mixes was authorized [3], [4], [12].

4.1. Conditions for the marketing of chia seed and for its use for business purposes

Novel food authorization decisions issued by the European Commission in accordance with Regulation (EC) No 258/97 are in the name of the applicant, so only those possessing a decision issued by the Commission, a member state authorization decision (in the case if there is no safety objection regarding the request), or who are on the notification list of the Commission, can place chia seeds or chia-

containing products on the market within the European Union. In accordance with the decisions, it is among the conditions for the marketing of chia seed as a novel food ingredient and for its use for business purposes that *Salvia hispanica* can be sold to consumers exclusively in a pre-packaged form, sales in a bulk form are not permitted. The recommended daily intake, which cannot exceed 15 grams, has to be indicated on the label of the product containing *Salvia hispanica*. In addition, the product label should include the name *Salvia hispanica*, and it should be indicated, using this name, in the list of ingredients in descending order of weight. *Salvia hispanica* can be used as a food ingredient in the following products: bakery products, breakfast cereals, and fruit, stone fruit and seed mixes. These products can contain no more than 10% of chia seeds by weight. Whole chia seeds can be added to fruit juices and fruit drink mixes in a crushed or ground form in amounts not exceeding 15 g/450 ml [3], [12].

Table 2 lists the chia seed containing foods available on the European Union market, grouped according to their authorization status.

5. Summary and future perspectives

The beneficial health effects of chia seed consumption are mainly attributed to its high protein and essential fatty acid contents. In most cases, no demonstrable health effects were confirmed by human studies of these effects. Consequently, for comprehensive confirmation of the beneficial health effects, further studies are warranted, as well as in the case of foods enriched with chia seeds.



A kép illusztráció / Picture is for illustration only
Fotó/Photo: Tolokán Adrienn

6. References

- [1] Advisory committee for novel foods and processes (2004): Opinion on an application under the novel foods regulation for chia (*Salvia hispanica* L.).
- [2] A Bizottság Határozata (2009. október 13.) az aztékszálamagnak (*Salvia hispanica*) a 258/97/EK európai parlamenti és tanácsi rendelet szerinti új élelmiszer-összetevőként való forgalomba hozatala engedélyezéséről
- [3] A Bizottság Végrehajtási Határozata (2013. január 22.) az aztékszálamag (*Salvia hispanica*) tekintetében a 258/97/EK európai parlamenti és tanácsi rendelet szerinti, új élelmiszer-összetevőként való felhasználás kibővítésének engedélyezéséről
- [4] A Bizottság Végrehajtási Határozata (2014. december 8.) az aztékszálamag-olajnak (*Salvia hispanica*) a 258/97/EK európai parlamenti és tanácsi rendelet szerinti új élelmiszer-összetevőként való forgalomba hozatala engedélyezéséről
- [5] Ali, N. M., Yeap, S. K., Ho, W. Y., Beh, B. K., Tan, S. W., Tan, S. G. (2012): The Promising Future of Chia *Salvia hispanica* L. *J Biom Biotechnol.* pp.1-9. doi:10.1155/2012/171956
- [6] Az Európai Parlament és a Tanács 258/97/EK rendelete az új élelmiszerekről és az új élelmiszer-összetevőkről
- [7] Bresson JL, Flynn A, Heinonen M, et al (2009): Opinion on the safety of Chia seeds (*Salvia hispanica* L.) and ground whole Chia seeds, as a food ingredient. *J Eur Food Safety Authority.* 996 pp.1–26.
- [8] CBI Ministry of Foreign Affairs (2016): Exporting chia seeds to Europe. <https://www.cbi.eu/node/2088/pdf/> (Acquired: 08. 30. 2016.)
- [9] Chapter Two – Chia (*Salvia hispanica*): A Review of Native Mexican Seed and its Nutritional and Functional Properties. In: *Advances in Food and Nutrition Research*, Vol. 75 pp. 53-75.
- [10] EFSA (2005): Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission related to the safety of chia (*Salvia hispanica* L.) seed and ground whole chia seed as a novel food ingredient intended for use in bread. *EFSA J* 278:1–12.
- [11] EFSA (2009): Scientific Opinion of the Panel on Dietetic Products Nutrition and Allergies on a request from the European Commission on the safety of Chia seed (*Salvia hispanica*) and ground whole Chia seed' as a food ingredient. *EFSA J* 996:1–2
- [12] https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/novel-food_authorisation_2015_auth-letter_chia-seeds-2_en.pdf (Acquired: 23. 09. 2016.)
- [13] Ixtaina VY, Nolasco SM, Tomas MC (2008): Physical properties of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. *Ind Crop Prod.* 28(3) pp. 286–293.
- [14] Ixtaina, V., Vega, A., Nolasco, S. M., Tomás, M. C., Gimeno, M., Bárzana, E., Tecante, A. (2010): Supercritical carbon dioxide extraction of oil from Mexican chia seed (*Salvia hispanica* L.): Characterization and process optimization. *J. of Supercritical Fluids.* 55 pp. 192–199.
- [15] Peiretti, P. G., Gai, F. (2009): Fatty acid and nutritive quality of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds and plant during growth. *AnimFeed Sci Technol.* 148(2–4) pp. 267–275.
- [16] Reyes-Caudillo, E., Tecante, A., Valdivia-Lopez, M. A. (2008) Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. *Food Chem* 107(2):656–663
- [17] Segura-Campos, M.R., Ciau-Solis, N., Rosado-Rubio, G., Chel-Guerrero, L., Betancur-Ancona, D. (2014): Physicochemical characterization of chia (*Salvia hispanica*) seed oil from Yucatán, México. *Agricultural Sciences.* 5(3) pp. 220-226.
- [18] Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, A. H., Sokmen, A. (2006): Screening of the antioxidant activity of six *salvia* species from Turkey. *Food Chem* 95. pp. 200–204.
- [19] Timilsena, Y. P., Adhikari, R., Kasapis, S., Adhikari, B. (2015): Rheological and microstructural properties of the chia seed polysaccharide. *International Journal of Biological Macromolecules.* 81 pp. 991–999.
- [20] Ullah, R., Nadeem, M., Khaliq, A., Imran, M., Mehmood, Javid, A., Hussain J. (2016): Nutritional and therapeutic perspectives of Chia (*Salvia hispanica* L.): a review. *J Food Sci Technol.* 53(4) pp. 1750-1758.
- [21] Vuksan, V., Whitham, D., Sevenpiper, J. et al., (2007): Supplementation of Conventional Therapy With the Novel Grain Salba (*Salvia hispanica* L.) Improves Major and Emerging Cardiovascular Risk Factors in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care.* 30(11) pp. 2804-2810.


SHIMADZU
 Excellence in Science


Futásra született

LCMS-8045 – kemény körülmények között is gyors és megbízható

A Shimadzu új LCMS-8045 készüléke egy kiváló paraméterekkel rendelkező tandem tömegspektrométer, amely a gyártó ultragyors UFMS sorozatát egészíti ki. Alkalmazható állatgyógyászatban használt hatóanyagok, növényvédő szer maradványok elemzésében, vízminőség vizsgálatokban és bioanalitikai feladatokban is.

5 msec alatti polaritás váltás
 lehetővé tesz, hogy egy futtatásból a lehető legtöbb adat legyen kinyerhető, csökkentve ezzel az elemzési időt és a költségeket

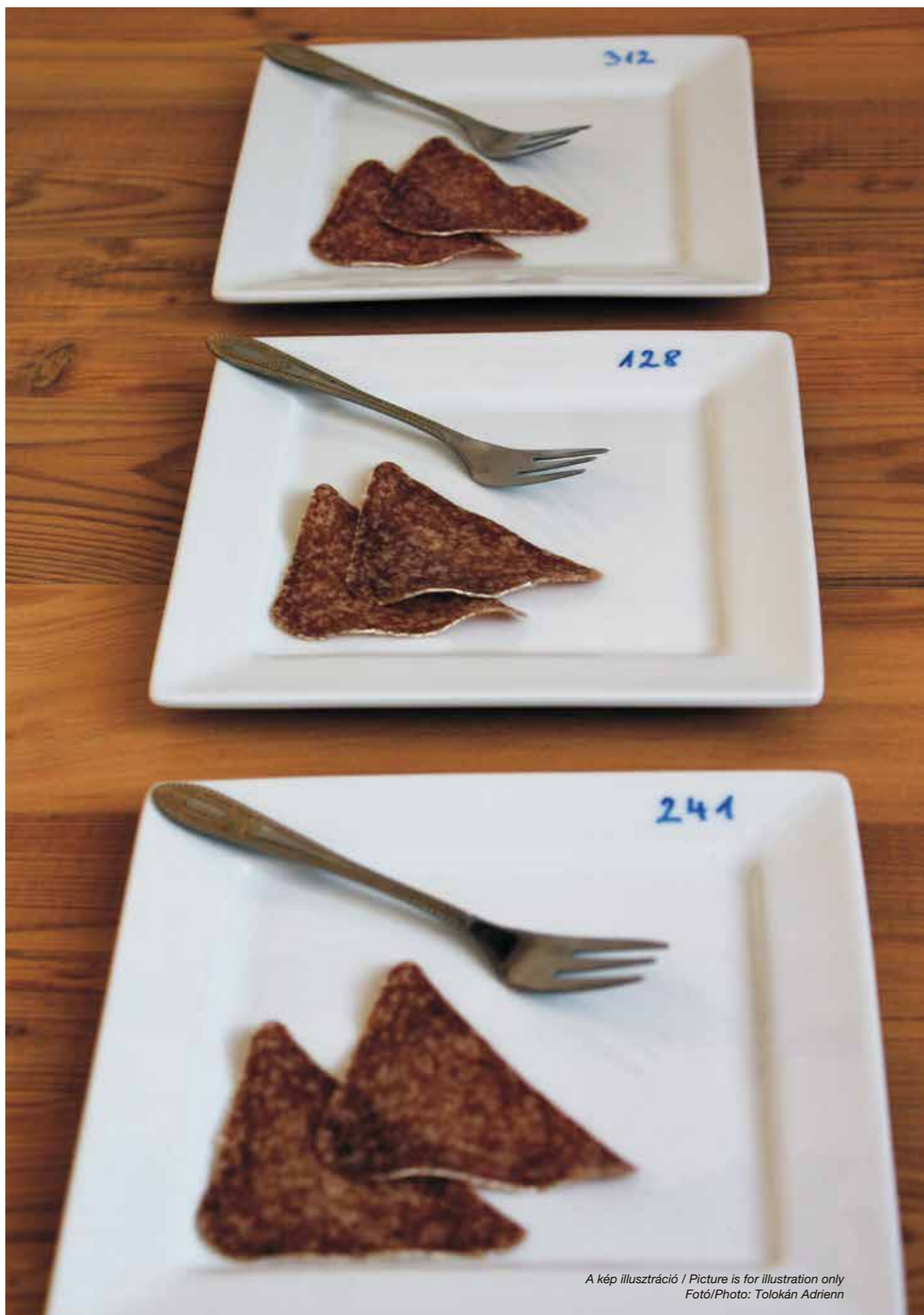
30 000 u/sec pásztázási sebesség
 biztosítja a nagy érzékenységu kvantitatív mérést és a kvalitatív komponensazonosítást egy elemzés során

Kiemelkedő robusztusság
 hosszútávon biztosított érzékenyég még komplex biológiai és élelmiszer minták elemzése esetében is

Továbbfejleszthető
 LCMS-8060 készülékké, amely biztosítja a felhasználó számára a világ élvonalába tartozó érzékenységet és ultragyors technológiákat



LCMS-8045



A kép illusztráció / Picture is for illustration only
Fotó/Photo: Tolokán Adrienn

Sipos László¹, Ladányi Márta², Kókai Zoltán¹, Gere Attila¹

Érkezett: 2016. augusztus – Elfogadva: 2016. november

Leíró vizsgálatot végző érzékszervi bírálók teljesítményértékelési módszereinek felülvizsgálata

Kulcsszavak: bírálók teljesítményvizsgálata, korreláció, regresszió, regressziós diagnosztika, szabvány

1. Összefoglalás

Az érzékelési tudományok alapját az érzékszervi mérések képezik. Az érzékszervi tudomány az emberi érzékszerveket a mérések eszközeként használja fel. Az érzékszervi vizsgálat során a termékek tulajdonságait érzékszervi bírálók és azokból álló bírálói csoport értékeli. Az érzékszervi tesztek után meghozott döntéseket az érzékelt adatok minősége alapvetően meghatározza, ezért az érzékszervi adatok minőségét a képzett és szakértői érzékszervi bírálói csoport és annak tagjai határozzák meg. Munkánkban az „MSZ ISO 11132:2013 Érzékszervi vizsgálatok. Módszertan. Általános irányelvek a leíró vizsgálatot végző bírálóbizottság teljesítményének mérése” című szabványban javasolt korrelációs és regressziós módszerek felülvizsgálatát mutatjuk be és javaslatot teszünk korrekcióra.

2. Bevezetés és szakirodalmi áttekintés

Kermit és Lengard [1] szerint egy jó érzékszervi bíráló csoportnak precíz, diszkriminatív és pontos eredményeket kell biztosítania. Ideális csoportteljesítmény akkor érhető el, ha minden egyes csoporttag megkülönbözteti a termékeket („nagy termékváltozatosság”), többször is ugyanazokat az értékeket éri el („bírálon belüli kis változatosság”). Ugyanakkor egyetért a többi vizsgálóbizottsági taggal az érzékszervi tulajdonságra vonatkozóan, adott tűréshatáron belül (bírálok közötti kis különbség) [2],[3],[4]. Az érzékszervi bírálatvezető (panel leader) feladata, hogy az érzékszervi tesztek során összegyűjtse a szükséges információkat a bíráló csoport tagjairól. A teljesítmény ellenőrzésével és nyomon követésével biztosítható, hogy a paneltagok és panelek elkülönítésre képesek, eredményeik állandóak, megismételhetőek, hibamentesek [5].

A szakirodalom az érzékszervi bírálókat képzettségük szerint három kategóriába sorolja: laikus bírálók (fogyasztók), képzett bírálók, szakértő bírálók. Különböző típusú feladatokhoz különböző képzettségű bírálók alkalmazása szükséges [6], [7], [8].

A laikus bírálókra jellemző, hogy átélik és nem elemzik az érzeteket, bírálatuk közben saját tapasztalatira hagyatkoznak, kivetítik a saját ízlésvilágukat a bírált termékre. Emiatt a laikus bírálóknak feltett kérdések a kedveltségre, preferenciára irányulnak: Melyik terméket kedveli legjobban? Mennyire kedveli az egyes termékeket? Mi az ideális intenzitása egy tulajdonságnak a termékben? Melyiket választaná, vásárolná meg? Az összefoglalóan fogyasztói teszteknek nevezett vizsgálatok során mintavételi terv alapján az alapsokaságot (nem, kor, lakhely, iskolai végzettség, nettó kereset stb.) reprezentáló, nagy létszámú (minimum 60 fő) lekérdezést hajtanak végre. A bírálóknak jellemzően nincsen előzetes termékismeretük, csak néhány terméket értékelnek, egyszerűsített skálák, és könnyen értelmezhető rövid kérdőívek segítségével. Ilyen esetekben a személyes, szubjektív ízlésvilágot vizsgáljuk. A kedveltségi tesztek széleskörűen alkalmazhatók, többek között versenytárs termékek összehasonlításához, termékek optimalizálásához, receptúra változásainak monitorozásához, márkavizsgálatok, csomagolástervezés elvégzéséhez. A kedveltségvizsgálatok arra irányulnak, hogy a vizsgált termékek között létezik-e érzékelhető preferencia-eltérés, illetve ha létezik, akkor mely termékek térnek el egymástól és milyen mértékben [9].

¹ Szent István Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, Árukezelési és Érzékszervi Minősítési Tanszék, H-1118 Budapest, Villányi út 35-43.

² Szent István Egyetem, Kertészettudományi Kar, Biometria és Agrárinformatika Tanszék, H-1118, Budapest, Villányi út 29-43.

A képzett bírálók speciális ismereteket kapnak az érzékszervi tudományterületen alkalmazott kísérletek megtervezésével, végrehajtásával és a kísérleti körülmények, tesztelés jó gyakorlataival kapcsolatban. A különböző érzékszervi módszertanok (különböző vizsgálatok, rangsorolások vizsgálatok, általános vizsgálatok) elsajátítása mellett többlépcsős bíráló kiválasztó teszteknek mennek keresztül, ahol az érzékszerveik mérési határait, pontosságát tesztelik. Ezekhez nyújtanak segítséget a hazai (MSZ) és nemzetközi (ISO) és átvett (MSZ ISO) szabványok: színfelismerés teszt, színintenzitás teszt, íz intenzitás teszt, íz felismerés teszt, illatfelismerés teszt, illatintenzitás teszt.

A képzett bírálók bírálócsoportban objektív minősítést végeznek, feladatuk közé tartozik az érzékszervi bírálócsoportban (érzékszervi panel) a rutin vizsgálatok elvégzése, alapanyag-átvétel, késztermék-ellenőrzés, megfelelőség-értékelés. A kérdésfeltevés módja is – ennek megfelelően – analitikus jellegű: milyen intenzitásúak a minták egy konkrét, objektíven definiálható tulajdonság szempontjából, van-e különbség a minták között, milyen természetű ez a különbség, milyen tulajdonságokat társít a mintához. Az érzékszervi teszteknel a hangsúly az érzékelt jellemző intenzitásának mérésén van, az eredmények jellemzően a bírálócsoport tagjai által adott értékek statisztikai elemzésével adódnak [7], [8].

A képzett bírálók közül a különleges érzékenységgű, tapasztalatú és tehetségű bírálók közül kerülnek ki a szakértői bírálók (bizonyos szakterületeken úgynevezett „orrok”). A képzett bírálókhöz képest speciális több hónapon, éven keresztül termékspecifikus képzésben részesülnek, ahol részletesen megtanulják a termékek érzékszervi tulajdonságainak felismerését, intenzitási értékeit, hibáit. A képzésekhez célszerűen speciális tesztek, különböző aromaanyagokat, illatréningeket – *Le nez du vin, Le nez du Café* – referenciamintákat, aromakereket alkalmaznak. A módszerekben szoftveresen is nagy jártassággal rendelkeznek. Mind a képzett, mind a szakértői bírálók nagy felelősséggel járó döntéseket hoznak.

A képzett és szakértői bírálók tesztelése és fejlesztése, teljesítményének a mérése jellemzően szabványos, többlépcsős és visszacsatoláson alapuló, sztenderdizált körülmények között megvalósított rendszeren keresztül történik, célszerűen szoftveres támogatás mellett.

3. Célkitűzés

Az „MSZ ISO 11132:2013 Érzékszervi vizsgálatok. Módszertan. Általános irányelvek a leíró vizsgálatot végző bírálóbizottság teljesítményének mérése” című szabvány többek között bemutatja az egyéni bíráló teljesítmémmérésének módszereit. A képzett

és szakértői bírálók teljesítményértékelésével kapcsolatban ennek a kutatásnak a célja a fenti szabványban javasolt korrelációs és regressziós módszerek pontosítása, kiegészítése és felülvizsgálata..

4. Anyag és módszer

Az MSZ ISO 11132:2013 Érzékszervi vizsgálatok. Módszertan. Általános irányelvek a leíró vizsgálatot végző bírálóbizottság teljesítményének mérése című szabvány melléklete (A.4.2) az egyéni bíráló korrelációval és regresszióval történő értékelésének részleteit mutatja be. Az egyéni bíráló teljesítményének három meghatározó eredménye a korrelációs koefficiens, a tengelymetszet és a meredekség. A korrelációs koefficiens megmutatja, hogy a bírálók mennyire használják hasonlóan az értékelő skálát egy adott tulajdonság mérésekor. A nullától szignifikánsan eltérő tengelymetszet a bírálócsoport inhomogenitására utal, azaz egy vagy több bíráló nem ért egyet a panel többi tagjával. A meredekség alacsony volta azt mutatja, hogy adott bíráló nem használja olyan nagy terjedelemben a skálát, mint a többi bíráló. Az ideális bírálócsoport tökéletes egyenese az, amelyikben a panel átlaga és a bíráló átlaga fedik egymást, meredeksége és korrelációs koefficiense egyaránt 1,0, és az egyenes a koordinátatengelyeket a nulla pontban metszi. [5].

A kiinduló mátrix 4 bíráló 6 termékre adott értékeit tartalmazza (1. táblázat). A szabvány mellékletében csak az eredmények találhatóak meg, ezért az eredményekhez tartozó részletes számításokat az első bíráló példáján mutatjuk be.

Az ISO szabvány az egyén és a panel közötti vizsgálatához referenciaként a teljes panel átlagát alkalmazza. Javasolja továbbá az egyéni bírálói pontokra illeszkedő regressziós egyenes korrelációjának, meredekségének, tengelymetszetének meghatározását. A Pearson-féle korrelációs együttható (r) képlete, ahol az \bar{x} az x_i értékek, az \bar{y} az y_i értékek átlagát jelölik:

$$r = \frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2 \sum_{i=1}^N (y_i - \bar{y})^2}}$$

A korrelációs együttható a paneltag és panelátlag közötti lineáris kapcsolat szorosságát méri, értéke független a mértékegységektől. A két érték közötti lineáris kapcsolat nagyságát és irányát jelzi. Minél távolabb van a zérustól annál erősebb a kapcsolat, értéke -1 (tökéletes negatív korreláció) és +1 (tökéletes pozitív korreláció) közé esik. A panelvizsgálatokban jellemzően ez szignifikáns +1-hez közeli pozitív érték (zérus az értéke, ha két rangsor között nincs kapcsolat, egymáshoz képest véletlenszerűek, korrelálatlanok). A lineáris, Pearson-féle korrelációs koefficiens kiszámíthatóságának feltételeit Fidy és Makara [10] alapján foglaljuk össze. Az Y és X változók mennyiségi (folytonos) változók legyenek és mindegyikük

eloszlása normális eloszlást kövessen. Az összes kovariancia legyen lineáris. Minden X értékhez Y érték is tartozzon. Az X és Y értékeket egymástól függetlenül mérjük. A minták választása legyen véletlen mintavétel.

A regresszió számítás lényege, hogy függvényeszerű kapcsolatot keresünk egy vagy több „független” (magyarazó) és egy függő változó között. Az adatokra illesztett lineáris modell a következően írható le: $Y = b_0 + b_1 X + e$, ahol a b_0 érték az elméleti regressziós konstans (tengelymetszet), a b_1 érték az elméleti regressziós együttható, az e érték pedig a véletlen hiba (reziduum/maradék), melyről feltételezzük, hogy X különböző értékei mellett egymástól független, 0 várható értékű, azonos szórású normális eloszlású valószínűségi változókkal adható meg. A becslés alapja a legkisebb négyzetek elve, ami szerint az úgynevezett reziduális/hiba négyzetösszeget minimalizáljuk:

$$F: (b_0, b_1) \mapsto \sum_{i=1}^n (y_i - (b_0 + b_1 x_i))^2 \quad [11].$$

Sajnálatos módon a szabvány nem ejt említést a regressziós modell diagnosztikájáról sem, ezért az eredményeket tárgyaló részben ezt is lépésről-lépésre bemutatjuk. A lineáris korreláció kiszámítása után a modellválasztás jóságát a regressziós modellre végzett variancia-analízis során kapott F érték alapján lehet megállapítani. Ahhoz, hogy a paraméterbecslést korrektnak, jónak fogadjassuk el ahhoz a panelátlagra és a tengelymetszetre vonatkozó t -értékeket kell értékelnünk. A kapott regressziós függvényt becsüljük az 1-es bíráló által adott értékeket a teljes panelátlagot felhasználva. A becsült és a valós értékek különbségei adják a reziduumokat. A reziduumokat/maradékokat a panelátlag (független változó) függvényében ábrázoljuk. Amennyiben az ábra egy szabálytalan pontfelhő, a reziduumok és a panelátlag függetlenségét elfogadjuk. A diagnosztika fontos lépése a maradékok normalitásának tesztelése. Ha a ferdeség és csúcosság abszolút értéke 1 alatt van, akkor elfogadható a normalitás. Amennyiben a csúcosság/csúcosság hibája vagy a ferdeség/ferdeség hibája hányadosok abszolút értékben 2 alatt vannak, akkor is elfogadható a normalitás [12], [13].

5. Eredmények

Az ISO 11132:2012 panelteljesítményével foglalkozó szabvány (A4.2) példán keresztül mutatja be az egyén korrelációval és regresszióval történő értékelésének részleteit. A szabvány mellékletében csak az eredmények találhatóak meg, ezért az eredményekhez tartozó részletes számításokat az első bíráló példáján mutatjuk be. Sajnálatos módon a szabvány nem tesz említést a regressziós modell diagnosztikájáról sem, ezért a következőkben ezt is részletesen bemutatjuk. Lineáris esetben a modell determinációs együtthatója a tapasztalati korrelációs koefficiens (r) négyzete az $R^2=0,98$, amely a modell és a teljes variancia hányadosaként írható fel, értelmezése, a modell 98%-ban magyarázza az első bíráló átlagértékeinek

1. táblázat A bírálókat kiinduló mátrixa (4 bíráló x 6 termék)
Table 1 Initial matrix of judgements (4 panelists x 6 products)

Minták Sample	Bírálók / Panelist								sorátlag Line average
	1		2		3		4		
	pontok score	átlag average	pontok score	átlag average	pontok score	átlag average	pontok score	átlag average	
1	8.0	8.3333	5.0	7.3	6.0	7.3	9.0	8.3	7.50
	8.0		8.0		7.0		8.0		
	9.0		9.0		5.0		8.0		
2	6.0	7.0	6.0	5.7	5.0	5.3	7.0	6.7	6.17
	8.0		7.0		4.0		7.0		
	7.0		4.0		7.0		6.0		
3	4.0	4.7	5.0	3.3	4.0	4.0	5.0	5.0	4.25
	5.0		2.0		3.0		5.0		
	5.0		3.0		5.0		5.0		
4	6.0	5.7	6.0	5.3	4.0	3.3	6.0	5.3	4.92
	6.0		4.0		2.0		5.0		
	5.0		6.0		4.0		5.0		
5	4.0	4.0	3.0	3.0	4.0	4.3	4.0	4.3	3.92
	5.0		2.0		4.0		5.0		
	3.0		4.0		5.0		4.0		
6	5.0	5.7	4.0	4.3	5.0	5.0	7.0	6.3	5.33
	6.0		2.0		4.0		5.0		
	6.0		7.0		6.0		7.0		
oszlopátlag Column average	5.89		4.83		4.67		6		5.35

szóródását (2. táblázat). A determinációs együttható esetében meghatározott a kapcsolat és azt mutatja meg, hogy mennyire lehet az egyik változóból a másik változót előre jelezni. Ezzel szemben a korrelációs koefficiens szimmetrikus, kétirányú a kapcsolat, és szignifikáns korreláció esetében sem jelent ok-okozati kapcsolatot.

A regressziós modellre vonatkozó varianciaanalízis (ANOVA) során az $F=248,1307$ adódott, értéke magas, ezért a lineáris modellválasztás jónak bizonyult (3. táblázat). Az ANOVA F-értéke szignifikánsnak adódott $p=9,49 \cdot 10^{-5}$.

A panelátlagra vonatkozó t-érték szignifikáns, elég nagy ($t_{panelátlag}=15,75; p=9,49 \cdot 10^{-5}$) ahhoz, hogy a paraméterbecslést korrektnak, jónak fogadjassuk el. A tengelymetszetre vonatkozó t-értéke ($t_{tengelymetszet}=1,03$) nem szignifikáns ($p=0,36$), tehát a modell 0-nál metszi a tengelyt, vagyis a bíráló teljesítménye a panelkonzenzust tekintve megfelelő (4. táblázat).

A kapott regressziós függvénnyel becsüljük az 1-es bíráló által adott értékeket a teljes panelátlagot felhasználva. A becsült és a valós értékek különbségei adják a reziduumokat. A reziduumokat/maradékokat a panelátlag (független változó) függvényében ábrázoljuk. Mivel az ábra egy szabálytalan pontfelhő, a reziduumok és a panelátlag függetlenségét elfogadjuk (5. táblázat, 6. táblázat, 1. ábra).

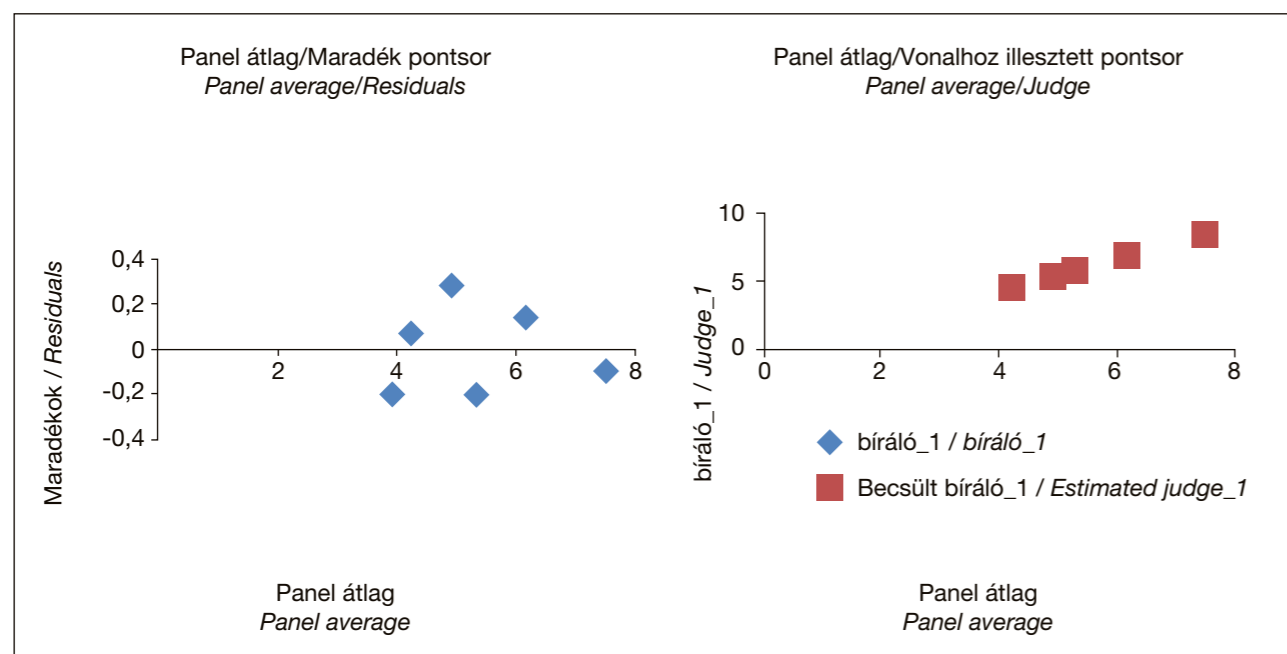
A diagnosztika fontos lépése a maradékok normalitásának tesztelése. Ha a ferdeség és csúcosság abszolút értéke 1 alatt van, akkor elfogadható a normalitás. Amennyiben a (csúcosság)/(csúcosság hibája) vagy a (ferdeség)/(ferdeség hibája) hányadosok abszolút értékben 2 alatt vannak, akkor is elfogadható a normalitás [12], [13] (7. táblázat).

Ha a csúcosság és/vagy ferdeség nagyobb, mint 1, akkor a D'Agostino teszt: $K^2 = Z^2(\sqrt{b_1}) + Z^2(b_2)$, ahol $Z^2(\sqrt{b_1})$ = ferdeség normál közelítése, és a $Z^2(b_2)$ = csúcosság normál közelítése. Ha a négyzetösszeg kisebb, mint a kritikus érték, illetve a szignifikancia szint 0,05 felett van, akkor elfogadható a normalitás [14]. Estünkben a csúcosság miatt D'Agostino teszt, amelyet két módszerrel vizsgálhatunk. Amennyiben a számított p-érték ($0,690825$) $> 0,05$, akkor a maradék pontsor normál eloszlást követ. Ha a táblázatos kritikus érték ($5,991465$) nagyobb mint a számított érték ($0,739738$), akkor a maradék pontsor normál eloszlást követ (8. táblázat).

Az egyén teljesítményének három meghatározó jellemzője a korrelációs koefficiens, amelynek értéke $r=0,992036$ ($R^2=0,9841$), a tengelymetszet $b_0=-0,4254$ és a meredekség $b_1=1,180552$ (2. ábra). Megjegyezzük, hogy ha a tengelymetszet nem szignifikáns, úgy érdemes lefuttatni a lineáris modellt úgy is, hogy nincs tengelymetszet, mert ez esetünkben a bíráló és bíráló panel közötti konszenzust jelenti.

Mivel a panelátlagban annak a bírálónak az adatsora is benne van, akivel az összehasonlítást (korrelációt) végezzük, az ISO által javasolt panelátlag használata torzíja az eredményeket. Belátható, hogy a korrelációs koefficiensnek minden esetben lesz egy olyan hozzáadott része, ami kizárólag abból adódik, hogy az egyén értékeit olyan értékekhez hasonlítjuk (teljes panelátlag), amelyben ő is szerepel.

Ennek kiküszöbölésére célszerű egy olyan – valószínűleg jobban tükröző – korrekció bevezetése, amelyben a teljes átlag helyett az adott bírálói érték nélküli átlag képezi az összehasonlítást (korreláció) alapját. Ez különösen azért fontos, mivel a Pearson-féle kor-



1. ábra. Panel átlag és reziduumok, panelátlag és bíráló (1)
Figure 1 Panel average and residuals, panel average and panelist (1)

2. táblázat A regressziós statisztika eredményei
Table 2 Results of the regression statistics

r értéke (korrelációs koefficiens) / value of r (correlation coefficient)	0.992035893
R ² (determinációs együttható) / R ² (coefficient of determination)	0.984135213
Korrigált r-négyzet / Corrected r squared	0.980169016
Standard hiba / Standard error	0.221502424
Megfigyelések (minták száma) / Observations (number of samples)	6

3. táblázat A regressziós modellre végzett varianciaanalízis
Table 3 Variance analysis of the regression model

	df	SS	MS	F	F érték szignifikanciája / Significance of the F value
Regresszió / Regression	1	12.17412	12.17412	248.1307	9.49E-05
Maradék / Residual	4	0.196253	0.049063		
Összesen / Total	5	12.37037			

4. táblázat A tengelymetszetre és a panelátlagra elvégzett statisztikák
Table 4 Statistics for the intercept and the panel average

	Koefficiensek Coefficients	Standard hiba Standard error	t-érték t-value	p-érték p-value	Alsó 95% Bottom 95%	Felső 95% Top 95%
Tengelymetszet Intercept	-0.425098024	0.410907	-1.03454	0.359328	-1.56596	0.715762
Panel átlag Panel average	1.180552243	0.074945	15.75217	9.49E-05	0.97247	1.388634

5. táblázat Maradék tábla
Table 5 Residuals table

Megfigyelés Observation	Becsült bíráló_1 Estimated panelist_1	Maradék Residuals	Standard maradékok Standard residuals
1	8.429043798	-0.09571	-0.4831
2	6.858909315	0.141091	0.712156
3	4.592249009	0.074418	0.375623
4	5.383219011	0.283448	1.430703
5	4.202666768	-0.20267	-1.02296
6	5.867245431	-0.20058	-1.01242

6. táblázat Valószínűségi tábla
Table 6 Probability table

Százalékos osztályozás Percent classification	bíráló_1 Panelist_1
8.333333	4
25	4.666667
41.66667	5.666667
58.33333	5.666667
75	7
91.66667	8.333333

7. táblázat. Maradék leíró statisztikái
Table 7 Descriptive statistics of the residuals

Maradék / Residuals		
-0.09571	átlag / average	2.96E-16
0.141091	ferdeség / skewness	0.336523
0.074418	csúcosság / kurtosis	-1.58302
0.283448	ferdeség hibája (std. err) / skewness error (std. err)	1
-0.20267	csúcosság hibája (std. err) / kurtosis error (std. err)	2
-0.20058		

8. táblázat. D'Agostino teszt
Table 8 D'Agostino test

számított ért / calculated value	0.739738
szignifikancia szint (p-érték) / significance level (p-value)	0.690825
kritikus érték / critical value	5.991465

relációs koefficiens kiszámíthatóságának egyik feltétele, a változók függetlensége csak ezáltal biztosítható. Természetesen ennek a módszernek az a következménye, hogy mindhárom teljesítményjellemző – korrelációs koefficiens, tengelymetszet, meredekség – értéke megváltozik.

A korrekció hatására természetesen minden esetben csökken a korrelációs koefficiens, mivel az adott bíráló adatsorát kiszedjük a panelátlagból. A korrekció hatására a tengelymetszet, valamint a meredekség értéke bírálótól függően javulhat vagy romolhat. Kivételt képez az a kevésbé valószínű speciális eset, amikor minden bíráló tökéletesen ugyanúgy minősíti az egyes termékeket, azaz a panel átlaga és a bíráló átlaga fedik egymást. A regressziós egyenes a nulla pontból indulva 1-es meredekségű, valamint a pontok az egyenesen helyezkednek el. Ebben az esetben nem változnak ezek a jellemzők.

A bírálók teljesítményjellemzőit külön kiszámoltuk az ISO szerint és a korrekcióval módosított eljárás szerint is. Az eredmények alapján megállapítható, hogy minden bíráló mindhárom teljesítményjellemzője megváltozik, amelyek közül a korrelációs koefficiens minden esetben csökkent. A könnyebb áttekinthetőség miatt szimbólum- és színkódokat vezettünk be. A nyilak az értékek változásának irányát mutatják (növekedés ↑, csökkenés ↓), a különböző színek pedig a bíráló értékének alakulását jelzik (javulás zöld, romlás piros). A korrelációs koefficiens értéke ideális esetben 1, a tengelymetszet 0, a meredekség 1.) (9. táblázat).

9. táblázat. ISO által javasolt módszer és a korrekcióval számolt módszer különbségei
Table 9 Differences between the method recommended by ISO and the method calculated with the correction

	bíráló(1) / Panelist(1)		bíráló(2) / Panelist(2)		bíráló(3) / Panelist(3)		bíráló(4) / Panelist(4)	
	ISO	korrekció correction	ISO	korrekció correction	ISO	korrekció correction	ISO	korrekció correction
Korrelációs koefficiens Correlation coefficient	0.992036	↓0.976322	0.948121	↓0.899362	0.812887	↓0.734924	0.987007	↓0.976797
Tengelymetszet Intercept	-0.425098	↑0.122192	-1.36602	↑-0.9232	1.488924	↑2.05053	0.289451	↑0.961967
Meredekség Slope	1.180552	↓1.100359	1.159119	↓1.029315	0.594156	↓0.46934	1.067725	↓0.968163

10. táblázat. Pearson-féle korrelációs koefficiens (korrigált módszer és szignifikancia szint)
Table 10 Pearson correlation coefficients (corrected method and significance level)

Pearson korrelációs koefficiens Pearson correlation coefficients	bíráló 1 / Panelist 1	bíráló 2 / Panelist 2	bíráló 3 / Panelist 3	bíráló 4 / Panelist 4
Korrigált panel (kivett bíráló 1) Corrected panel (Panelist 1 excluded)	0.9763 (p=0.0008)			
Korrigált panel (kivett bíráló 2) Corrected panel (Panelist 2 excluded)		0.8994 (p=0.0147)		
Korrigált panel (kivett bíráló 3) Corrected panel (Panelist 3 excluded)			0.7349 (p=0.0961)	
Korrigált panel (kivett bíráló 4) Corrected panel (Panelist 4 excluded)				0.9768 (p=0.0008)

Az előbbieken bemutatott 1-es bíráló esetében a korrekció hatására a korrelációs koefficiens értéke csökkent, ugyanakkor mind a tengelymetszet, mind a meredekség a paneléhez közelített. Hasonló tendencia volt megfigyelhető a 2-es bíráló esetében is. A korrekciós módszer alapján, az 1-es bírálótól csak minimálisan különbözött. Az ISO alapján a 4-es bíráló adódott a legjobb bírálónak. Érdemes kiemelni a 3-as bírálót, akinek mindhárom paramétere romlott. A bíráló tagok közül az ő korrelációs koefficiense csökkent a legnagyobb mértékben, így ennek a bírálónak az értéke torzították legjobban a panel eredményét. Ezt támasztják alá a romló tengelymetszet és romló meredekség értéke is. Ennek a bírálónak a legkisebb meredekség értéke egyben arra utalnak, hogy nem használta olyan nagy terjedelemben a skálát, mint a többi bíráló. Fontos hangsúlyozni, hogy a korrelációs koefficiens (r) értéke csak adott szignifikancia szint mellett értelmezhető. Amennyiben nem szignifikáns a korreláció úgy nem bizonyított a lineáris összefüggés, így további vizsgálatok szükségesek az összefüggések feltárására. A korrekcióval számolt Pearson-féle korrelációs mátrix (α=0,05) bemutatja, hogy a 3. bíráló korrelációs koefficiense nem adódott szignifikánsnak (10. táblázat).

Hangsúlyoznunk kell, hogy a kritikus értéket az előre rögzített szignifikancia szint mellett az elemszám határozza meg. További számításokat végeztünk, amelyek azt mutatták, hogy amennyiben 6 helyett 8 terméket tesztelt volna a 3. bíráló, úgy már a kritikus értéknél nagyobb a számított érték, így adott szignifikancia szint mellett elfogadható, hogy lineáris

összefüggés adódik a korrigált panelátlag és az adott paneltag értékei között (r=0,7349; p=0,038; α=0,05). Természetesen a 7. és 8. terméket az átlagokkal helyettesítettük így az r értéke nem változott. Pontdiagramban szemléltetve 6 minta esetében 6 pont adódik, 8 minta esetében 8 pont adódik, de 7-nek látszik, mivel a két átlagpont fedésben van. A korrelációs koefficiens értékét egy-egy kilógó (outlier) érték erősen befolyásolja. Ezt támasztja alá, hogy a 8 minta esetében lévő legalsó pont értékét csak két átlagérték tud ellensúlyozni, hogy szignifikáns legyen a korrelációs koefficiens értéke (α=0,05) (3. ábra). A kilógó értékek okait további vizsgálatokkal célszerű feltárni.

A Pearson-féle korrelációs táblázat kritikus értékei segítségével bemutatható a szignifikanciaszint rögzítésének eredményekre gyakorolt hatása is. A 3. bíráló eredményeit alapul véve (r=0,7349) α=0,1 esetén 6 termék, α=0,05 esetén 8 termék, α=0,01 esetén pedig már 12 termék esetében lenne szignifikáns. Azért is fontos, hogy a korrelációs koefficiens szignifikáns legyen, mert így a lineáris regresszió is szignifikáns lesz (11. táblázat) [15].

Összefoglalóan megállapítható, hogy az ISO által javasolt panelátlag használata torzíthatja az eredményeket. Helyette célszerű a korrekciós módszer al-

11. táblázat. A Pearson-féle korrelációs együtthatóra vonatkozó kétoldali kritikus értékek táblázata [15]
Table 11 Table of bilateral critical values for the Pearson correlation coefficient [15]

N	α=0.1	α=0.05	α=0.01
4	0.900	0.950	0.990
5	0.805	0.878	0.959
6	0.729	0.811	0.917
7	0.669	0.754	0.875
8	0.621	0.707	0.834
9	0.582	0.666	0.798
10	0.549	0.632	0.765
11	0.521	0.602	0.735
12	0.497	0.576	0.708

12. táblázat. Spearman-féle korrelációs koefficiens (korrigált módszer és szignifikancia szint)
Table 12 Spearman correlation coefficients (corrected method and significance level)

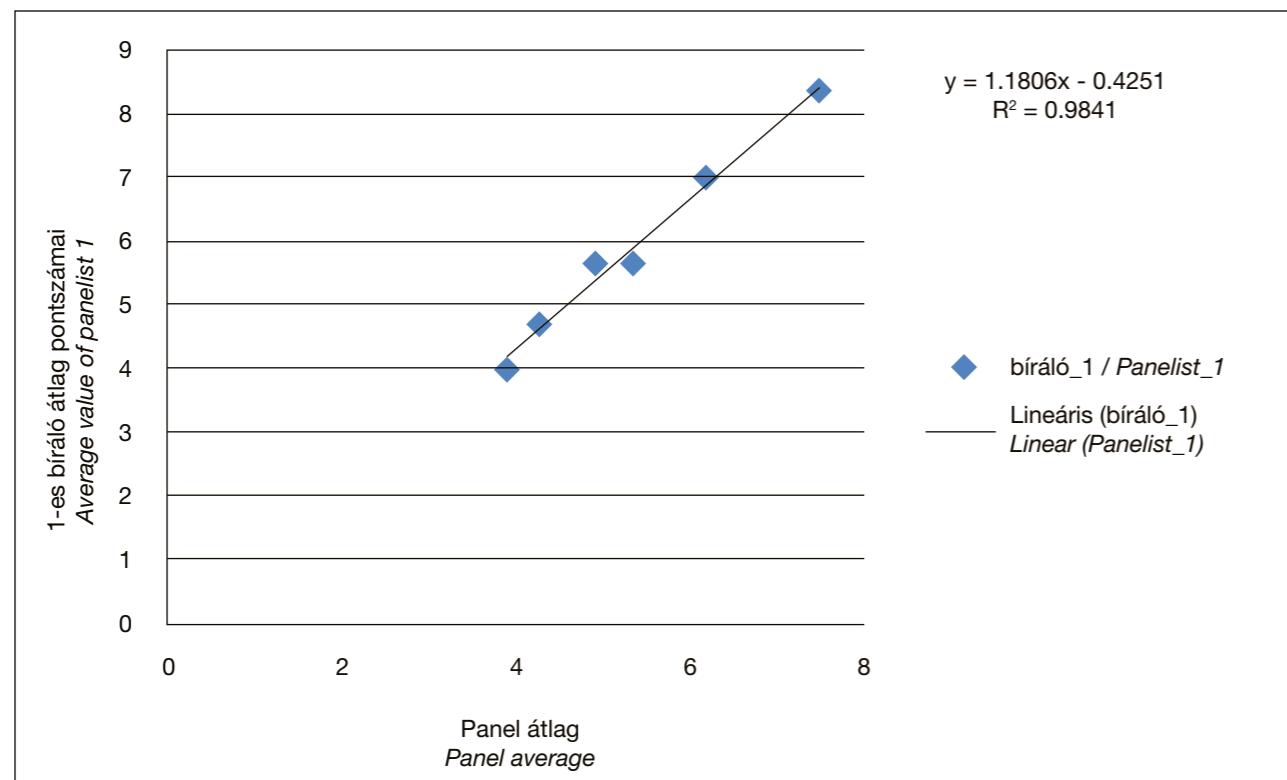
Spearman korrelációs koefficiens Spearman correlation coefficients	bíráló 1 / Panelist 1	bíráló 2 / Panelist 2	bíráló 3 / Panelist 3	bíráló 4 / Panelist 4
Korrigált panel (kivett bíráló 1) Corrected panel (Panelist 1 excluded)	0.9856 (p=0.0028)			
Korrigált panel (kivett bíráló 2) Corrected panel (Panelist 2 excluded)		0.9429 (p=0.0167)		
Korrigált panel (kivett bíráló 3) Corrected panel (Panelist 3 excluded)			0.6957 (p=0.1361)	
Korrigált panel (kivett bíráló 4) Corrected panel (Panelist 4 excluded)				1.0000 (p<0.0001)

13. táblázat. A Spearman korrelációs koefficiens kétoldali kritikus értékek táblázata [19]
Table 13 Table of the bilateral critical values of the Spearman correlation coefficients [19]

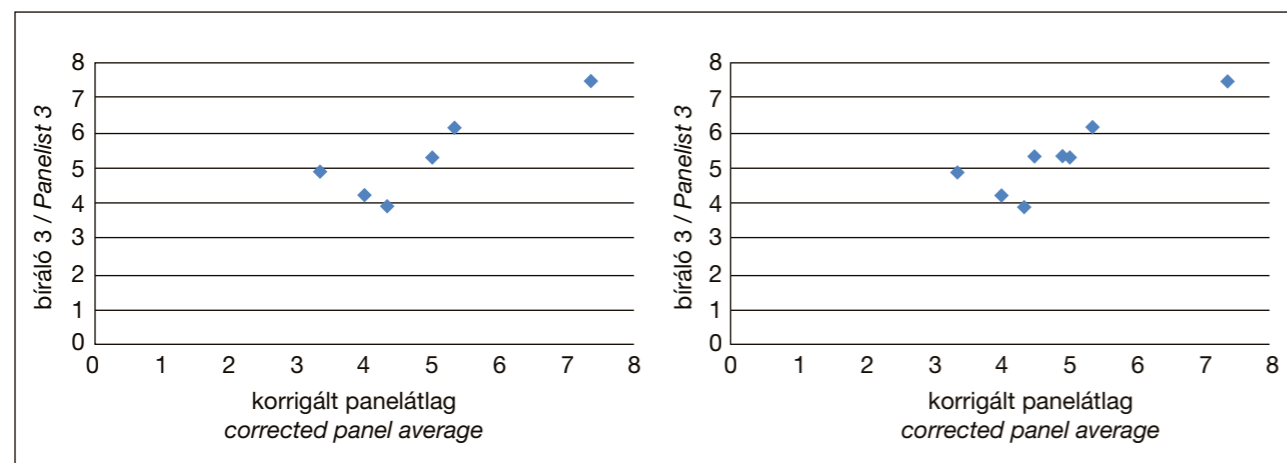
	α=0.1	α=0.05	α=0.01
4	1.000	–	–
5	0.900	1.000	–
6	0.829	0.886	1.000
7	0.714	0.786	0.929
8	0.643	0.738	0.881
9	0.600	0.700	0.833
10	0.564	0.648	0.794
11	0.536	0.618	0.755
12	0.503	0.587	0.727
13	0.484	0.560	0.703
14	0.464	0.538	0.675
15	0.443	0.521	0.654
16	0.429	0.503	0.635
17	0.414	0.485	0.615
18	0.401	0.472	0.600
19	0.391	0.460	0.584
20	0.380	0.447	0.570

kalmazásával a vizsgálandó bíráló értékét kivenni az átlag számításához a valóság jobb közelítése érdekében. A korrigált panelátlagot, így a belőle képzett korrelációs koefficiens értékét is jelentősen befolyásolják a kilógó érték(ek). A Pearson-féle korreláció kritikus értékeit az elemszám és a szignifikancia szint befolyásolja. A regresszió elvégzésénél szakmailag megalapozott döntést csak a regressziós modellre végzett diagnosztika elvégzése után tehetünk. A korrekció hatására szinte mindig csökken a korrelációs koefficiens, viszont a tengelymetszet és a meredekség értéke a bírálói értékeléstől függően változhat.

Képzett bírálócsoport rendszerint 10-12 főből áll, amely statisztikai értelemben alacsony elemszámú ($n < 13$), a változókkal kapcsolatban sérülhet a normalitási követelmény. Ennek következtében a paraméteres próbák feltételei nem teljesülnek, így a kevésbé hatékony, de eloszlás független nem-parametrikus módszereket kell választani. Fontos kiemelni, hogy ezek a próbák az eloszlás függetlenség mellett bizonyos feltételeket megkövetelnek. Az egyén és a panel által adott pontok korrelációját Pearson-féle korrelációval elemezve torzított eredményt adhatnak.



2. ábra. Panel átlag és bíráló (1) átlagértékei
Figure 2 Panel average and the average value of panelist (1)



3. ábra. Bíráló (3) a korrigált panelátlag függvényében 6 és 8 minta átlagértékeivel ábrázolva
Figure 3 Panelist (3) as a function of the corrected panel average, plotted with the average values of 6 and 8 samples, respectively

Helyette a korreláció nemparaméteres, robusztus megfelelőjével a Spearman rho értéket célszerű kiszámítani, amely nem érzékeny a normalitási feltétel sérülésére, és a minták eloszlásának a különbözőségére sem [16]. A Spearman rangkorrelációs eljárás két változó monotonitását, vagyis az együtváltozás szorosságát méri adott mintában. A Spearman rangkorreláció során a mintabeli adatok sorbarendeze után rangszámkonverziót hajtunk végre, azaz a rendezett minták elemeihez rangszámokat rendelünk ($X_i \rightarrow$ helyett: Rang(X_i)=rangszám). Ezután a rangszámokra elvégezzük a Pearson korreláció kiszámítását [17], [18].

A változók megkövetelt függetlensége miatt ez esetben is javasolt a korrekció elvégzése. A korrekcióval számolt Spearman-féle korrelációs mátrix ($\alpha=0,05$) eredményei jelen esetben a Pearson-féle korrekcióval számolt korrelációhoz hasonló eredményre jutottak. A 3. bíráló korrelációs koefficiense itt sem adódott szignifikánsnak, és ugyanúgy 6 helyett 8 terméket kellene tesztelnie ahhoz, hogy a kritikus értéknél nagyobb legyen a számított érték, hogy szignifikáns legyen az eredmény ($r=0,6957$; $p=0,1361$; $\alpha=0,05$) (12. táblázat).

A Spearman-féle korrelációs táblázat kritikus értékei alapján a 3. bíráló eredményeit alapul véve ($r=0,6957$) viszont változtak az eredmények, mivel $\alpha=0,1$ esetén 8 termék, $\alpha=0,05$ esetén 10 termék, $\alpha=0,01$ esetén pedig már 14 termék esetében lenne szignifikáns. A Spearman-féle korrelációval számolva több termék kell a szignifikáns eredmény eléréséhez (13. táblázat) [19]. A lineáris regresszió helyett pedig a robusztus regresszió, irány-tangens tesztelésével valósítható meg célszerűen [17].

6. Következtetések

Az MSZ ISO 11132:2013 szabvány az egyén és a bírálócsoport közötti vizsgálatához referenciaként a teljes panel átlagát alkalmazza, és javasolja az egyéni bírálói pontokra illeszkedő regressziós egyenes korrelációjának, meredekségének, tengelymetszetének meghatározását. Mivel a panelátlag tartalmazza annak a bírálónak az adatsorát is, akivel az összehasonlítást (korrelációt) végezzük, az ISO által javasolt panelátlag használata torzítja az eredményeket. Belátható, hogy a korrelációs koefficiensnek minden esetben lesz egy olyan hozzáadott része, ami kizárólag abból adódik, hogy az egyén értékeit olyan értékekhez hasonlítjuk (teljes panelátlag),



A kép illusztráció / Picture is for illustration only
Fotó/Photo: Shutterstock

amelyben ő is szerepel. Ennek korrekciójára adunk megoldási javaslatot az eredmények részben.

Számításainkkal bizonyítottuk, hogy mivel a panelátlagban annak a bírálónak az adatsora is benne van, akivel az összehasonlítást (korrelációt) végezzük, a szabvány által javasolt panelátlag használata torzítja az eredményeket, ezért a korrekt számításhoz a vizsgáló bíráló értékét ki kell venni az átlag kiszámításánál. A javasolt korrekciós módszer hatására szinte mindig csökken a korrelációs koefficiens, viszont a tengelymetszet és a meredekség értéke a bírálói értékeléstől függően változik.

Számításainkkal igazoltuk, hogy a korrigált panelátlagot - így a belőle képzett korrelációs koefficiens értékét is - jelentősen befolyásolják a kilógó érték(ek). Kiemeltük, hogy a szignifikancia mértékét nem megalapozott a kapcsolat szorosságaként értelmezni, mivel csak a nullhipotézist elutasító döntés megbízhatóságával van összefüggésben [18]. Amennyiben nem szignifikáns a korreláció, úgy nem bizonyított a lineáris összefüggés, így további vizsgálatok szükségesek az összefüggések feltárására. Számításainkkal igazoltuk, hogy a kis elemszámnál magasnak tűnő korrelációs koefficiens nem feltétlenül jelent szignifikáns különbséget, viszont magas elemszámnál alacsonynak tűnő korrelációs is szignifikáns lehet kétoldalú kritikus értékek táblázata alapján [15].

Munkánkban igazoltuk, hogy amennyiben nem teljesülnek a parametrikus próbák feltételei, úgy a Pearson-féle korreláció helyett nem paraméteres, eloszlás független robusztus megfelelőjével a Spearman rho értéket célszerű kiszámítani. Kiemeltük, hogy a változók megkövetelt függetlensége miatt ebben az esetben is javasolt a korrekció elvégzése. Természetesen a kritikus értéket a Spearman-féle korrelációs együtthatóra vonatkozó kétoldalú kritikus értékek táblázata alapján kell meghatározni [19].

Összefoglalva ezek alapján célszerű javasolni az „MSZ ISO 11132:2013 Érzékszervi vizsgálatok. Módszertan. Általános irányelvek a leíró vizsgálatot végző bírálóbizottság teljesítményének mérésére” című szabvány felülvizsgálatát és módosítását.

7. Köszönetnyilvánítás



Az Emberi Erőforrások Minisztériuma ÚNKP-16-4 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának támogatásával készült.

8. Irodalom

- [1] Kermit, M., Lengard, V. (2005): Assessing the performance of a sensory panel-panelist monitoring and tracking. *Journal of Chemometrics*, 19, 154–161.

- [2] Bi, J., Kuesten, C. (2012): Intraclass Correlation Coefficient (ICC): A Framework for Monitoring and Assessing Performance of Trained Sensory Panels and Panelists. *Journal of Sensory Studies*, 27, 5, 352–364.
- [3] Derndorfer, E., Baierl, A., Nimmervoll, E., Sinkovits, E. (2005). A panel performance procedure implemented in R. *Journal of Sensory Studies*, 20, 217–227.
- [4] Carbonell, L., Izquierdo, L., Carbonell, I. (2007). Sensory analysis of Spanish mandarin juices. Selection of attributes and panel performance. *Food Quality and Preference*, 18, 329–341.
- [5] MSZ ISO 11132:2013 Érzékszervi vizsgálatok. Módszertan. Általános irányelvek a leíró vizsgálatot végző bírálóbizottság teljesítményének mérésére
- [6] Molnár, P. (1991): Élelmiszerek érzékszervi vizsgálata. Budapest: Akadémiai Kiadó, 11–204.
- [7] Kókai, Z. (2003): Az almafajták érzékszervi bírálata. Doktori értekezés. Budapest: Budapesti Közgazdaságtudományi és Államigazgatási Egyetem, 35–59.
- [8] MSZ ISO 6658:2007 Érzékszervi vizsgálat. Módszertan. Általános útmutató.
- [9] ISO 11136:2014 Sensory analysis -- Methodology -- General guidance for conducting hedonic tests with consumers in a controlled area
- [10] Fidy, J. Makara, G. (2005): Biostatistika. InformMed 2002 Kft.
- [11] Harnos Zs., Ladányi, M. (2005): Biometria agrártudományi alkalmazásokkal. Budapest, Aula. 274–284, 307.
- [12] Tabachnick, B. G., Fidell, L. S. (2003). Using Multivariate Statistics, 6th ed. Boston: Allyn and Bacon.
- [13] Tabachnick, G. G., Fidell, L. S. (2007): Experimental Designs Using ANOVA. Belmont, CA: Duxbury.
- [14] D'Agostino, R. B., Belanger, A., D'Agostino, R.B. Jr. (1990): "A suggestion for using powerful and informative tests of normality". *The American Statistician*, 44 (4) 316–321.
- [15] Bevington, P.R. (1969): Data Reduction and Error Analysis for Physical Sciences. McGraw-Hill Book, New York.
- [16] Sajtos, L., Mitev, A. (2007): SPSS kutatási és adatelemzési kézikönyv. Budapest: Alinea Kiadó. 163–244.
- [17] Bard, Y. (1974): Nonlinear parameter estimation. New York, Academic Press.
- [18] Vargha, A. (2008): Matematikai statisztika pszichológiai, biológiai és nyelvészeti alkalmazásokkal. Budapest, Pólya. 265–330.
- [19] Weathington, B. L., Cunningham, C. J. L., Pittenger, D. J. (2012): Understanding Business Research. New Jersey, John Wiley & Sons. 454.

kromat

INTELLIGENS. INTUITÍV. INNOVATÍV. Új Agilent INTUVO 9000 GC

Moduláris és click-and-run felépítés: Guard Chip, Flow Chip, planáris kolonna.

Közvetlen, gyors felfűtés.

Felhasználóbarát, színes, érintőképernyős kijelző.

Távvezérlési lehetőség.



Agilent Technologies
Authorized Distributor

Kromat Kft. | 1112 Budapest, Péterhegyi út 98. | Telefon: +36 1 248 2110 | Fax: +36 1 319 8547 | E-mail: info@kromat.hu

www.kromat.hu

Revision of the performance evaluation methods of sensory panelists performing descriptive analysis

Keywords: performance evaluation of panelists, correlation, regression, regression diagnostics, standard

1. Summary

Sensory tests form the basis for sensory science. Sensory science uses human senses as measurement tools. During sensory tests, the properties of a product are evaluated by sensory panelists and by a sensory panel consisting of them. Decisions made after sensory tests are fundamentally determined by the quality of the data experienced, therefore, the quality of sensory data is determined by the trained and expert sensory sensory panel and its members. In our work, revision of the correlation and regression methods recommended by the standard titled „MSZ ISO 11132:2013 Sensory analysis. Methodology. Guidelines for monitoring the performance of a quantitative sensory panel” are described, and corrections are suggested.

2. Introduction and literature review

According to Kermit és Lengard [1], a good sensory sensory panel should provide precise, discriminative and accurate results. An ideal group performance can be achieved if the products are differentiated by each member of the group (“great product variety”), and the same results are obtained several times (“small variation for the individual panelists”). However, there should be agreement with the other panel members regarding the sensory property, within a given tolerance (small variation among panelists) [2],[3],[4]. The task of the sensory panel leader is to collect the necessary information about members of the panel during sensory tests. By monitoring and following up performance it can be ensured that panel members and panel are capable of distinction, their results are constant, repeatable and free of error [5].

Based on their training, sensory panelists are classified into three categories by the literature: naive assessors (consumers), trained panelists, expert panelists. Panelists of different training levels are required for different tasks [6], [7], [8].

It is characteristic of naive assessors that they do not analyze sensations, they experience them, during judging they rely on their own experience and project their own preferences onto the products being panelistd. Therefore, when untrained assessors are asked, it should be focused on liking or preference: “Which product do you like most? How much do you like certain products? What is the ideal intensity of a property in a product? Which one would you choose, which one would you buy?” During analyses generally called consumer tests, a large number of queries are performed (at least 60 persons), representing the underlying population (regarding gender, age, place of residence, educational level, net earnings, etc.), based on a sampling plan. Panelists typically do not have prior knowledge of the products, they only evaluate a few products, with the help of simplified scales and easy to understand short questionnaires. In these cases, personal, subjective tastes are tested. Preference tests can be applied widely, for example, to compare competitor products, for product optimization, to monitor changes in formulation, or to perform brand studies or packaging tests. Preference tests are intended to determine whether there is an perceivable difference between the products tested,

and if there is such a difference, which products differ from each other and to what extent [9].

Trained panelists receive specialized knowledge regarding the planning and execution of experiments used in the area of sensory science and good practices of experimental conditions and testing. In addition to learning about the different sensory methodologies (difference testing, ranking tests, general tests), they undergo multi-stage panelist selection tests, where the measurement limits and the accuracy of their senses are tested. These are helped by domestic (MSZ), international (ISO) and adopted (MSZ ISO) standards: color recognition, color intensity test, flavor intensity test, flavor recognition test, odor recognition test, odor intensity test.

Trained panelists perform objective qualification in the sensory panel, their tasks include carrying out routine tests in the sensory sensory panel (sensory panel), reception of raw materials, finished product inspection, conformity assessment. Accordingly, the method of questioning is of an analytical nature: what are the intensities of the samples from the point of view of a specific, objectively definable characteristic, is there a difference between the samples, what is the nature of the difference, what characteristics are associated with the sample. During sensory tests, the emphasis is on measuring the intensity of the perceived characteristic, results are typically obtained by the statistical analysis of the values given by the members of the sensory panel [7], [8].

Expert panelists are panelists of special sensitivity, experience and talent selected from among trained panelists (called “noses” in certain fields). Compared to trained panelists, they receive special, product specific training, lasting several months or even years, where they learn about the recognition, intensity values and errors of the sensory properties of products. For these trainings, it is advantageous to use specialized tests, different aromatic substances, fragrance trainings – *Le nez du vin*, *Le nez du Café* – reference samples, or an flavour wheel. They also have great experience in the software part of the methods. Both trained and expert panelists make decisions involving great responsibility.

The testing and development of trained and expert panelists, as well as the measurement of their performance are typically realized through a standardized, multi-stage system based on feedback, implemented under standardized conditions, preferably with software support.

3. Objectives

Among other things, the standard titled „MSZ ISO 11132:2013 Sensory analysis. Methodology. Guidelines for monitoring the performance of a quantitative sensory panel” describes the methods for measuring the performance of individual panelists. With regard to the performance evaluation of trained and expert pan-

elists, the objective of this research is refining, supplementing and revising the correlation and regression methods recommended by the above standard.

4. Materials and methods

The Annex (A4.2) to the standard titled MSZ ISO 11132:2013 Sensory analysis. Methodology. Guidelines for monitoring the performance of a quantitative sensory panel describes in detail the evaluation of individual panelists using correlation and regression analysis. The three key indicators of the performance of an individual panelist are the correlation coefficient, the intercept and the slope. The correlation coefficient shows how similarly the panelists use the rating scale when measuring a given property. An intercept significantly different from zero indicates panel inhomogeneity, i.e., that one or more panelists do not agree with the other members of the panel. A low slope shows that the range of scale used by the given panelist is not as wide as it is in the case of other panelists. The perfect line of the ideal sensory panel is one where the panel average and the average of the panelist overlap, the slope and the correlation coefficient are both 1.0, and the line intersects the coordinate axes at zero [5].

The initial matrix contains the values given by 4 panelists to 6 products (Table 1). The annex to the standard contains only the results, therefore, detailed calculations belonging to the results are shown in the example of the first panelist.

For its examination between the individual and the panel, the average of the entire panel is used as a reference by the ISO standard. Determination of the correlation, slope and intercept of the regression line fitted to the individual panelists’ points is also recommended. The formula of the Pearson correlation coefficient (r), where \bar{x} is the average of the x_i values and \bar{y} is the average of the y_i values:

$$r = \frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2 \sum_{i=1}^N (y_i - \bar{y})^2}}$$

The correlation coefficient is a measure of the closeness of the linear relationship between the panel member and the panel average, and its value is independent of measurement units. It indicates the size and direction of the linear relationship between the two values. The further away it is from zero, the stronger the relationship is, and its value is between -1 (perfect negative correlation) and +1 (perfect positive correlation). In panel studies it is typically a significantly positive value, close to +1 (its value is zero if there is no relationship between the two rankings, they are random relative to each other, uncorrelated). Calculability conditions for the linear Pearson correlation coefficient are summarized according to Fidy and Makara [10]. Variables Y and X have to be

¹ Szent István Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, Árukezelési és Érzékszervi Minősítési Tanszék, H-1118 Budapest, Villányi út 35-43.

² Szent István Egyetem, Kertészettudományi Kar, Biometria és Agrárinformatika Tanszék, H-1118, Budapest, Villányi út 29-43.

quantitative (continuous) variables, and their distributions must follow a normal distribution. All covariances must be linear. For each X value, there should be a corresponding Y value. X and Y values have to be measured independently of each other. Sample selection has to be by random sampling.

The essence of regression analysis is that a function-like relationship is sought between one or more “independent” (explanatory) and a dependent variable. The linear model fitted to the data can be described as follows: $Y=b_0 + b_1X + e$, where value b_0 is the theoretical regression constant (intercept), value b_1 is the theoretical regression coefficient, and value e is the random error (residual), about which it is assumed that it can be given, in the case of different values of X , by independent, normal distribution probability variables with an expected value of 0, that have the same standard deviation. The estimation is based on the least squares principle, according to which the so-called residual/error sum of squares is minimized:

$$F: (b_0, b_1) \mapsto \sum_{i=1}^n (y_i - (b_0 + b_1x_i))^2 \quad [11].$$

Unfortunately, the standard does not mention the diagnostics of the regression model, therefore, in the section discussing the results, this is also presented step by step. After calculating the linear correlation, the goodness of the model selection can be determined based on the F value obtained during the variance analysis performed for the regression model. For the parameter estimation to be accepted as correct or good, the t values for the panel average and the intercept have to be evaluated. The values given by panelist no. 1 are estimated with the regression function obtained, using the entire panel average. The residuals are given by the differences between the estimated and the actual values. Residuals are plotted against the panel average (independent variable). If the figure is an irregular cloud of points, the independence of the residuals and the panel average is accepted. An important step of the diagnostics is the testing of the normality of the residuals. If the absolute values of skewness and kurtosis are less than 1, then the normality is acceptable. If the absolute values of the ratios (kurtosis)/(kurtosis error) and (skewness)/(skewness error) are less than 2, then again the normality is acceptable [12], [13].

5. Results

Details of the evaluation of the individual using correlation and regression is described by standard ISO 11132:2012 on panel performance through a sample (A 4.2). The annex to the standard contains only the results, therefore, detailed calculations belonging to the results are shown in the example of the first panelist. Unfortunately, the standard does not mention the diagnostics of the regression model either, therefore, it is also described in detail in the following. In a linear case, the coefficient of determination of the model is the square of the empirical correlation coefficient (r),

$R^2=0.98$, which can be given as the ratio of the model and the total variance, and its interpretation is that the standard deviation of the average values of the first panelist can be explained by the model in 98% (Table 2). In the case of the coefficient of determination, there is a specific connection, and it shows, how one variable can be predicted based on the other variable. On the other hand, the correlation coefficient is symmetrical, there is a two-way connection, and even in the case of a significant correlation it does not indicate a cause-and-effect relationship.

During variance analysis of variance of the regression model (ANOVA), $F=248.1307$ was obtained, its value is high, therefore, selecting a linear model proved to be good (Table 3). The F -value of the ANOVA was found to be significant $p=9.49 \cdot 10^{-5}$.

The t -value for the panel average is significant, and quite large ($t_{panel\ average}=15.75$; $p=9.49 \cdot 10^{-5}$) for the parameter estimation to be accepted as correct or good. The t -value for the intercept ($t_{interception}=1.03$) is not significant ($p=0.36$), therefore, the model intersects the axis at 0, i.e., the performance of the panelist, considering the panel consensus, is adequate (Table 4).

The value given by panelist no. 1 is estimated by the regression function obtained, using the entire panel average. Residuals are given by the differences between the estimated and the actual values. Residuals are plotted against the panel average (independent variable). Since the figure is an irregular cloud of points, the independence of the residuals and the panel average is accepted (Table 5, Table 6, Figure 1).

An important step of diagnostics is the testing of the normality of the residuals. If the absolute values of skewness and kurtosis are less than 1, then the normality is acceptable. If the absolute values of the ratios (kurtosis)/(kurtosis error) and (skewness)/(skewness error) are less than 2, then again the normality is acceptable [12], [13] (Table 7).

If the kurtosis and/or the skewness is higher than 1, then the D'Agostino test is applied: $K^2 = Z^2(\sqrt{b_1}) + Z^2(b_2)$, where, $Z^2(\sqrt{b_1})$ is the normal approximation of the skewness, and $Z^2(b_2)$ is the normal approximation of the kurtosis. If the sum of square is smaller than the critical value, and the significance level is above 0.05, then the normality is acceptable [14]. In our case, because of the kurtosis, the D'Agostino test is applied, which can be carried out in two ways. If the calculated p -value (0.690825) > 0.05, then the series of residuals follows a normal distribution. If the tabular critical value (5.991465) more than the calculated value (0.739738), then the series of residuals follows a normal distribution (Table 8).

The three key indicators of the performance of an individual panelist are the correlation coefficient, the

value of which is $r=0.992036$ ($R^2=0.9841$), the intercept $b_0=-0.4254$, and the slope $b_1=1.180552$ (Figure 2). (It should be noted that if the intercept is not significant, then it is worth running the linear model in a way where there is no intercept, because in our case this means a consensus between the panelist and the sensory panel.)

Since the panel average also includes the dataset of the panelist with whom the comparison (correlation) is performed, the use of the panel average recommended by ISO distorts the results. Admittedly, in all cases, the correlation coefficient will have an additional part that comes solely from the fact that the value of the individual is compared to values (the entire panel average) that also includes his/her data.

To eliminate this, it is advisable to introduce a correction – reflecting reality better – where the comparison (correlation) is based, instead of the entire average, on the average without the value of the given panelist. This is especially important because one of the conditions for the calculability of the Pearson coefficient, i.e., the independence of the variables, can only be ensured this way. Of course, the consequence of this method is that the values of all three performance characteristics – correlation coefficient, intercept, slope – will change.

As a result of the correction, of course, the correlation coefficient decreases in each case, because the dataset of the given panelist is taken out of the panel average. Due to the correction, the values of the intercept and the slope can either improve or deteriorate, depending on the panelist. The only exception is the very unlikely, special case, where the individual products are classified by all of the panelists completely identically, i.e., the panel average and the average of the panelist overlap. The regression line starts from point zero with a slope of 1, and the points are located on the line. In this case, these characteristics do not change.

The performance characteristics of the panelists were calculated both according to ISO, and according to the procedure modified by the correction. Based on the results it can be stated that all three performance characteristics of all of the panelists change, and the correlation coefficient was reduced in all cases. For the sake of clarity, symbols and color codes have been introduced. Directions of the changes in the values are indicated by arrows (increase ↑, decrease ↓). The evolution of the value of the panelist is shown by the different colors (green – improvement, red – deterioration). In the ideal case, the value of the correlation coefficient is 1, the intercept is 0, and the slope is 1 (Table 9).

For Panelist 1 described above, due to the correction, the value of the correlation coefficient decreased, while both the intercept and the slope approached those of the panel. A similar trend was observed in the case of Panelist 2 as well, who differed

from Panelist 1 only marginally, based on the correction method. According to ISO, the best panelist was Panelist 4. It is worth highlighting Panelist 3, for whom all three parameters deteriorated. Of the sensory panel members, his/her correlation coefficient decreased to the greatest extent, so the results of the panel were distorted mainly by the values of this panelist. This is supported by the deteriorating intercept and slope values also. The slope values, lowest for this panelist, also indicate that the range of scale used by this panelist was not as wide as it was in the case of other panelists. It is important to emphasize that the value of the correlation coefficient (r) can only be interpreted at a certain significance level. If the correlation is not significant, a linear relationship is not proven, and so to reveal the connections, further studies are needed. The Pearson correlation matrix calculated with the correction ($\alpha=0.05$) shows that the correlation coefficient of Panelist 3 was not proven to be significant (Table 10).

It should be emphasized that, at a preset significance level, the critical value is determined by the number of elements. Further calculations were carried out which showed that if 8 products had been tested by Panelist 3 instead of 6, then the calculated value would have been greater than the critical value, and so at a given significance level it is acceptable that there is a linear relationship between the corrected panel average and the values of the given panel member ($r=0.7349$; $p=0.038$; $\alpha=0.05$). Of course, the averages were substituted for products 7 and 8, and so the value of r did not change. When shown as a scatter plot, in the case of 6 samples there are 6 points, while in the case of 8 samples there are 8 points, but it looks like there are only 7, because the two average points overlap. The value of the correlation coefficient is strongly influenced by outlier values. This is supported by the fact that, in the case of 8 samples, the value of the lowest point can only be balanced by two average values in order for the correlation coefficient to be significant ($\alpha=0.05$) (Figure 3). It is advisable to perform further studies to determine the reasons for outliers.

With the help of the critical values of the Pearson correlation table, the effect of setting the significance level on the results can be demonstrated as well. Based on the results of Panelist 3 ($r=0.7349$), it would be significant in the case of 6 products if $\alpha=0.1$, in the case of 8 products if $\alpha=0.05$, and in the case of 12 products if $\alpha=0.01$. For the correlation coefficient to be significant is also important, because this way the linear regression will be significant as well (Table 11) [15].

In summary, it can be stated that the use of the panel average recommended by ISO can distort the results. Instead of this, it is advisable to take the value of the panelist to be evaluated out, for a better approximation of reality using the correction method. Both the corrected panel average and the value of the correlation coefficient calculated from it are

significantly influenced by the outlying value(s). Critical values of the Pearson correlation are influenced by the number of elements and the significance level. When performing the regression, professionally informed decisions can only be made after carrying out the diagnostics for the regression model. As a result of the correction, the correlation coefficient almost always decreases, but the change in the intercept and the slope depends on the panelist's evaluation.

A trained sensory panel usually consists of 10-12 members, which is a low number of elements ($n < 13$) in a statistical sense, and the normality requirement regarding the variables may be breached. Consequently, the conditions for the parametric tests are not met, and so less efficient but distribution-independent, non-parametric methods should be selected. It is important to emphasize that, in addition to being distribution-independent, certain conditions are required by these tests. When analyzing the points given by the individual and the panel using the Pearson correlation, distorted results may be obtained.

Instead, with the non-parametric, robust counterpart of the correlation, the Spearman rho value should be calculated, which is not susceptible to either damages to the normality condition, or to differences in sample distribution [16]. The monotonicity of two variables, i.e., the closeness of changing together is measured by the Spearman rank correlation procedure. During the Spearman rank correlation, after putting sample data in order, a ranking number conversion is performed, i.e., ranks are assigned to the elements of the ordered samples (instead of $X_i \rightarrow \text{Rank}(X_i) = \text{ranking number}$). Then, the calculation of the Pearson correlation is performed for the ranking numbers [17], [18].

Due to the required independence of the variables, carrying out the correction is recommended in this case as well. Here, the results of the Spearman correlation matrix calculated with the correction ($\alpha = 0.05$) were similar to those of the correlation calculated with the Pearson correction. The correlation coefficient of Panelist 3 was not significant here either and, again, 8 instead of 6 products had to be tested for the calculated to be greater than the critical value, in order for the result to be significant ($r = 0.6957$; $p = 0.1361$; $\alpha = 0.05$) (Table 12).

However, based on the critical values of the Spearman correlation table, taking into account the results of Panelist 3 ($r = 0.6957$), the results change, because they would be significant in the case of 8 products for $\alpha = 0.1$, in the case of 10 products for $\alpha = 0.05$, and in the case of 14 products for $\alpha = 0.01$. Calculating with the Spearman correlation, more products are required to obtain a significant result (Table 13) [19]. And, instead of linear regression, it is advisable to use robust regression, with the testing of the slope [17].

6. Conclusions

For its analysis between the individual and the sensory panel, the average of the entire panel is used as a reference by standard MSZ ISO 11132:2013, and it recommends the determination of the correlation, slope and intercept of the regression line fitted to the individual panelist's points. Since the panel average also contains the dataset of the panelist for whom the comparison (correlation) is performed, the use of the panel average recommended by ISO distorts the results. It can be seen that the correlation coefficient will always have an additional part which is solely due to the fact that the values of the individual are compared to values (the entire panel average) which also include this panelist. To correct this, a solution is proposed in the results section.

Our calculations proved that, since the panel average also includes the dataset of the panelist for whom the comparison (correlation) is performed, the use of the panel average recommended by the standard distorts the results, therefore, for a correct calculation, the value of the panelist to be examined has to be excluded when calculating the average. Due to the proposed correction method, the correlation coefficient almost always decreases, while the values of the intercept and the slope change as a function of the panelist's evaluation.

Our calculations also proved that the corrected panel average – and so the correlation coefficient that comes from it – is significantly influenced by outlying value(s). It was highlighted that it is not well-founded to interpret the level of significance as the closeness of the relationship, because it is only related to the reliability of the decision rejecting the null hypothesis [18]. If the correlation is not significant, then the linear relationship is not proven, and so further studies are needed to explore the connections. Our calculations confirmed that a seemingly high correlation coefficient does not necessarily mean a significant difference in the case of a small number of elements, however, in the case of a large number of elements, a seemingly low correlation can still be significant, based on the table of bilateral critical values [15].

In our work we proved that if the conditions for parametric tests are not met then, instead of the Pearson correlation, it is advisable to calculate the Spearman rho value using its non-parametric, distribution-independent robust counterpart. It was pointed out that, due to the required independence of the variables, carrying out the correction is also recommended in this case. Of course, the critical value should be determined based on the table of bilateral critical values for the Spearman correlation coefficient [19].

In summary, based on the above, revision and modification of the standard "MSZ ISO 11132:2013 Sensory analysis. Methodology. Guidelines for monitoring the performance of a quantitative sensory panel" is recommended.

7. Acknowledgements



Supported BY the ÚNKP-16-4 New National Excellence Program of the Ministry of Human Capacities.

8. References

- [1] Kermit, M., Lengard, V. (2005): Assessing the performance of a sensory panel–panellist monitoring and tracking. *Journal of Chemometrics*, 19, 154–161.
- [2] Bi, J., Kuesten, C. (2012): Intraclass Correlation Coefficient (ICC): A Framework for Monitoring and Assessing Performance of Trained Sensory Panels and Panelists. *Journal of Sensory Studies*, 27, 5, 352–364.
- [3] Derndorfer, E., Baierl, A., Nimmervoll, E., Sinkovits, E. (2005). A panel performance procedure implemented in R. *Journal of Sensory Studies*, 20, 217–227.
- [4] Carbonell, L., Izquierdo, L., Carbonell, I. (2007). Sensory analysis of Spanish mandarin juices. Selection of attributes and panel performance. *Food Quality and Preference*, 18, 329–341.
- [5] MSZ ISO 11132:2013 Érzékszervi vizsgálatok. Módszertan. Általános irányelvek a leíró vizsgálatot végző bírálóbizottság teljesítményének mérésére
- [6] Molnár, P. (1991): Élelmiszerek érzékszervi vizsgálata. Budapest: Akadémiai Kiadó, 11–204.
- [7] Kókai, Z. (2003): Az almafajták érzékszervi bírálata. Doktori értekezés. Budapest: Budapesti Közgazdaságtudományi és Államigazgatási Egyetem, 35–59.
- [8] MSZ ISO 6658:2007 Érzékszervi vizsgálat. Módszertan. Általános útmutató.
- [9] ISO 11136:2014 Sensory analysis -- Methodology -- General guidance for conducting hedonic tests with consumers in a controlled area
- [10] Fidy, J. Makara, G. (2005): Biostatistika. InforMed 2002 Kft.
- [11] Harnos Zs., Ladányi, M. (2005): Biometria agrártudományi alkalmazásokkal. Budapest, Aula. 274-284, 307.
- [12] Tabachnick, B. G., Fidell, L. S. (2003). Using Multivariate Statistics, 6th ed. Boston: Allyn and Bacon.
- [13] Tabachnick, G. G., Fidell, L. S. (2007): Experimental Designs Using ANOVA. Belmont, CA: Duxbury.
- [14] D'Agostino, R. B., Belanger, A., D'Agostino, R.B. Jr. (1990): "A suggestion for using powerful and informative tests of normality". *The American Statistician*, 44 (4) 316–321.
- [15] Bevington, P.R. (1969): Data Reduction and Error Analysis for Physical Sciences. McGraw-Hill Book, New York.
- [16] Sajtos, L., Mitev, A. (2007): SPSS kutatási és adatelemzési kézikönyv. Budapest: Alinea Kiadó. 163-244.
- [17] Bard, Y. (1974): Nonlinear parameter estimation. New York, Academic Press.
- [18] Vargha, A. (2008): Matematikai statisztika pszichológiai, biológiai és nyelvészeti alkalmazásokkal. Budapest, Pólya. 265-330.
- [19] Weathington, B. L., Cunningham, C. J. L., Pittenger, D. J. (2012): Understanding Business Research. New Jersey, John Wiley & Sons. 454.



A kép illusztráció / Picture is for illustration only
Fotó/Photo: Shutterstock

Tizáné Kósa Eszter Imola¹, Szabó S. András¹, Szabó Gergely Levente²,
Izsák Margit¹, Bozi János¹

Érkezett: 2016. június – Elfogadva: 2016. szeptember

Természettudományos oktatás az iskolában élelmiszer-vizsgálati kísérletek segítségével

Kulcsszavak: természettudományos oktatás, analitika, élelmiszerbiológia, élelmiszerfizika, élelmiszerkémia, mérés technika

1. Összefoglalás

A természettudományos ismeretek oktatásában a kísérleteknek meghatározó a jelentősége. A diákok pedig – úgy tapasztaltuk – nagyon szívesen veszik, ha a kísérletek tárgya egy számukra is jól ismert anyag, jelen esetben valamilyen élelmiszer. Ismét tíz egyszerű, fizikai, kémiai és biológiai jellegű kísérletet írunk le a következő témakörökben: színek kialakulása és pH-érték, ízfelismerés elfedése, tojásfehérje reakciója sóval és citromlével, szőlőcukor és porcukor azonosítása, pezsgőpor készítése, tej zsírtartalmának mérése, xantoprotein reakció, sajtolvasztás mikrohullámú sütőben, főzés kukta fazékban, karotinoidok kimutatása.

A vizsgálatok illetve a kísérletek során felhasznált élelmiszerek: céklalé, citromsav, málnaszörp, szódabikarbóna, vörösbor, tojásfehérje, konyhasó, citromlé, szőlőcukor, porcukor, borkősav, tej, sajt, sárgarépa.

2. Bevezetés

Korábbi cikkeinkben [1], [2], [3] már leírtuk, hogy meggyőződésünk szerint a természettudományos tárgyak oktatásában meghatározó szerepe van a kísérletek bemutatásának is. Természettudományos kísérletek beépítésével a képzésbe – azaz a szemléltetéssel – remélhetőleg az oktatómunkánk is eredményesebb és hatékonyabb lesz.

Az előző dolgozatokban már bemutattunk számos kísérletet, amelyek közül egyesek inkább fizikai, mások inkább kémiai vagy biológiai jellegűek voltak. Természetesen nincs éles határ e tárgyak között, és úgy véljük, hogy a korszerű szemléletű természettudományos képzésnek éppen a tárgyak közötti átfedések, összefüggések leírása, sőt a kapcsolódások kihangsúlyozása jelenti fontos részét. A következőkben ismét tíz egyszerű, de továbbra is az élelmiszer-vizsgálatokhoz kapcsolódó kísérletet mutatunk be. Természetesen olyanokat, amelyek különösebb gond nélkül elvégezhetők egy közepesen felszerelt, fizikai, biológiai és kémiai kísérletek lefolytatására alkalmas iskolai laboratóriumban.

3. A javasolt természettudományos kísérletek leírása

3.1. Miért vörös színű a cékla, és változik-e a szín a pH-változás hatására?

A 9. osztályos kémia könyvben [4] az olvasható, hogy Boyle az 1600-as években olyan megállapítást tett, hogy savak azok a vegyületek, amelyek a növényi kivonatok színét pirosra változtatják. Ezen kívül egy érdekes természeti jelenséget is említ a tankönyv, amely szerint egy díszcserje, a kerti hajnalka (*Ipomoea purpurea*) virágának színe attól függ, hogy milyen napszakban figyeljük meg. Reggel sötétkék színű, aztán a nap során fellépő fotoszintetikus tevékenység következtében (asszimilációs fiziológiai folyamatok változtatják a növényi nedv pH értékét, fokozatosan savassá válik) színe vörösre módosul.

A céklában jellegzetes bordó színt adó színanyagok az antociánok (antocianinok, antocianidinek) közé tartoznak. Azt vizsgáltuk, hogy a céklalé színe módosul-e a pH-változtatás hatására, ha a léhez savat (citromsav) illetve lúgos anyagot (szódabikarbóna) adunk. A cékla esetében jelentős színváltozás nem

¹ Budapesti Ward Mária Általános Iskola, Gimnázium és Zeneművészeti Szakgimnázium

² Budapest Műszaki Szakképzési Centrum, Petrik Lajos Két Tanítási Nyelvű Vegyipari, Környezetvédelmi és Informatikai Szakközépiskola

lépett fel. A citromsav hatására talán kissé intenzívebb lett a bordó szín, de a lúgos pH-tartományba való eltolás sem befolyásolta alapvetően az eredeti céklalé határozottan bordó színét. A jelenségből az a következtetés vonható le, hogy a céklalé bordó színének kialakulásáért nem csupán az antocián vegyületek felelősek. Az antociánok savas közegben oxónium formában vannak jelen, amelyek a pH-növekedés (lúgosítás) hatására fokozatosan kinoidális szerkezetűvé alakulnak, amelynek során a szín a bordóból ugyan kék árnyalatúvá változik [5], [6], de ez a színváltozás nem elég intenzív a cékla többi stabil színanyagának elnyomásához. Az indikátorként ismert lakmusz esetében szintén az oxónium-kinoid átalakulás megy végbe.

A kísérletet vörösborral is elvégeztük és azt tapasztaltuk, hogy a savanyítás ebben az esetben sem befolyásolta a bor vörös színét; a lúgosítás hatására viszont fokozatosan barnás-kékes árnyalatúvá vált az eredeti szín.

3.2. Ízanyagok elfedésének vizsgálata málnaszörp esetében

Számos korábbi kísérletben [7], [8], [9], [10], [11], [12], [13], [14] bizonyítottuk, hogy az egyes aromaanyagok érzékszervi érzékelhetősége, illetve intenzitásának felismerhetősége az élelmiszerekben jelenlévő egyéb komponensek jelenlététől is függ. A kísérletben a diákok málnaszörpöt vizsgáltak édes ízre 1:5 arányú, vízzel való hígítás után. Két mintát kaptak, azonban az egyik mintát 1% citromsavval egészítettük ki. A feladat az volt, hogy a két minta közül meg kellett állapítaniuk, hogy melyiket érzik édesebbnek, illetve érzékelnek-e különbséget az édes ízben. A visszafordítás lehetőségét biztosítottuk.

A málnaszörp a jellegzetes illatot adó aromaanyagon – 4-(4-hidroxi-fenil)-butanon – kívül főleg cukrokat és szerves savakat tartalmaz, ezek adják az édes és a savanyú ízt. A diákok többsége (>80%) a citromsavval kiegészített mintát jelölte kevésbé édesnek, de néhányan a két minta között nem tudtak különbséget tenni. A citromsavas mintát senki sem érzékelte édesebbnek. Tehát helyes a következtetés: a citromsav jelentősebb koncentrációban való jelenléte mérsékli az édes íz intenzitását. Nyilvánvalóan azért, mert az érzékelés folyamatában (inger-ingerület-érzet) az édes ízt adó anyag jelenlétét érzékelő bioszenzor jelét a savanyú ízt érzékelő bioszenzor jele zavarja. Ez az oka annak, hogy azonos cukortartalmú cseresznye és meggy fogyasztása során a meggyet azért érezzük savanyúbbnak, mert a savtartalom (főleg almasav, citromsav, borostyánkősav és aszkorbinsav) a meggyben jelentősen meghaladja a cseresznyében mérhető értéket [15].

3.3. Tojásfehérje reakciója konyhasóval és citromlével

A kísérlet során a kémcsőbe konyhasót adagoltunk tojásfehérjéhez, majd kis idő elteltével desztillált vi-

zet öntöttünk rá. A kísérleti tapasztalat azt mutatta, hogy kis mennyiségű konyhasó hozzáadására a tojásfehérje változatlan maradt, nagyobb mennyiségű só hozzáadása után azonban a fehérje kicsapódott, de desztillált víz hozzáadása után újra oldatba került. A jelenség úgy magyarázható, hogy a fehérjemolekulák hidrátburkát a hidratálódó ionok elvonják, ezért a fehérjemolekulák konjugálódnak. Víz hozzáadásával viszont a hidrátburkuk újra kialakul, tehát ez a változás reverzibilis.

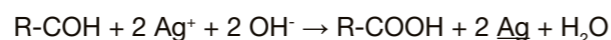
A citromlével végzett kísérlet során a fehérje kicsapódott a kémcső falára, s hiába adtunk a rendszerhez desztillált vizet, a fehérje nem oldódott fel. A magyarázat lényege, hogy amikor a tojásfehérjére (protein) savat öntünk, a proteinek szerkezete (a tojásfehérjében albuminnak nevezik) kémiaiilag változik meg. Ilyen módon sav hatására a fehérje denaturálódik és kicsapódik a kémcső falára. Ez a kémiai változás visszafordíthatatlan (irreverzibilis).

3.4. Szőlőcukor és porcukor oldat azonosítása

A feladat a glükózból és szacharózból készült oldat megkülönböztetése, s az azonosításra például az ezüsttükör próbát alkalmazhatjuk. A kísérletek során előbb a reagenst készítjük el, úgy, hogy egy kémcsőbe ezüst-nitrát-, majd ammónia-oldatot öntünk addig, míg a kezdetben leváló csapadék fel nem oldódik. A glükóz- és szacharóz-oldatokhoz ebből a reagensből adagolunk. A kémcsőveket gázégővel vagy borszeszégővel melegítjük, és megfigyeljük a változásokat. Az tapasztalható, hogy az ezüsttükör próba során a glükóz-oldatot tartalmazó kémcsőben ezüst csapadék – fémezüst tükör – válik ki. A szacharóz-oldatot tartalmazó kémcsőben viszont változás nem következett be.

A jelenség azzal magyarázható, hogy mivel a glükóz redukáló gyűrűs monoszacharid, molekulái vizes oldatban felnyílnak és a szénlánc végén redukáló hatású formilcsoportot képeznek. Ezért a glükóz adja az aldehydekre jellemző reakciókat, így az ezüsttükör-próbát is. A szacharóz viszont nem redukáló diszacharid, a molekulákat alkotó két gyűrű még vizes oldatban sem nyílik fel, így nem alakulhat ki formilcsoport sem. Ezért a szacharóz oldat hatására az ezüsttükör-próba negatív lesz.

Az ezüsttükör-próba általános egyenlete:



Megemlítjük, hogy mindkét cukorból azonos koncentrációjú (pl. 2%) oldatot készítve, érzékszervileg is jól kimutatható köztük a különbség, mivel a szőlőcukor édes ízt eredményező hatása lényegesen kisebb mértékű, mint a szacharózé. Tehát ez esetben az analitikai feladat a legegyszerűbb és legtermészetesebb mérés technika – az emberi bioszenzorok felhasználása – alkalmazásával is megoldható.



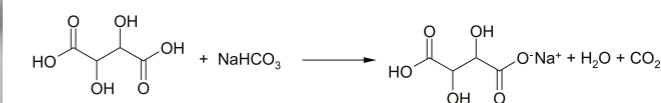
A kép illusztráció / Picture is for illustration only
Fotó/Photo: Shutterstock

3.5. Pezsgőpor készítés, majd a porból üdítőital előállítása

A sav-bázis reakcióknak az élelmiszerkémiaiban is nagy jelentősége van. A különféle pezsgőtabletták esetében is sav-bázis reakció révén indul meg a tabletták oldódása. Az oldódást egyúttal gázfejlődés is kíséri. A pezsgőtablettákhoz hasonló pezsgőport kémia órán is könnyen készíthetünk, szemléltetve ezzel a valódi tabletták működési elvét és annak kémiai hátterét.

A demonstrációs céllal készülő pezsgőpor elkészítéséhez kb. 1 g borkősav, 1 g nátrium-hidrogén-karbonát (szódabikarbóna), továbbá az üdítőital előállításához mintegy 10 g kristálycukor és 100 cm³ víz szükséges [16]. A borkősavat és a nátrium-hidrogén-karbonátot először dörzsmozárban elporítjuk, majd az elegyet főzőpohárba töltjük és hozzáöntjük a vizet. Ennek hatására élénk pezsgés tapasztalható. Amennyiben a cukrot is feloldjuk a pohárban, kellemes ízű üdítőitalt kapunk.

A pezsgőpor oldódása során tapasztalt heves pezsgés magyarázata az, hogy a borkősav – mint gyenge sav – és a nátrium-hidrogén-karbonát – mint gyenge bázis – sav-bázis reakcióba lép egymással, melynek során CO₂ gáz képződik a következő reakció szerint:



A kísérlet előnye, hogy a szükséges anyagok könnyen beszerezhetők, így a diákok akár otthon is elvégezhetik a kísérletet. Megjegyezzük, hogy a kémiai laboratóriumban tilos ételt és italt fogyasztani, de ha a higiéniai körülmények lehetővé teszik, kivételesen akár egy közös üdítőital-fogyasztás mellett is elmagyarázható a diákoknak a kísérlet kémiai háttere.

A kísérlet egyúttal jó alkalmat biztosít arra is, hogy átismételjük a kémiai és fizikai oldódás jellegzetességeit és különbségeit. A kísérlet ugyanakkor nem csupán a 9. osztály tananyagában használható fel, hanem 10. osztályban is, a szerves savak tárgyalásánál. Ez utóbbi esetén érdemes megemlíteni, hogy a borkősav a borban található szerves savak egyik igen fontos képviselője, ugyanakkor – mint savanyúságot szabályozó szert és antioxidáns – az élelmiszeriparban is széleskörűen alkalmazzák.

3.6. Tejek zsírtartalmának összehasonlító mérése

Az élelmiszerüzletekben kapható tehéntejek többnyire 1,5 és 2,8% közötti zsírtartalmúak, bár 0,1 és 3,6% is előfordul. Ugyanakkor a frissen fejt tej zsírtartalma ettől jelentősen nagyobb, általában 4% körüli érték. Bár a tejelő tehén által termelt tej összetétele meglehetősen stabilnak tekinthető, a friss tej zsírtalmát kis mértékben számos tényező befolyásolja, mint pl. a szarvasmarha fajtája, az évszak, a takar-

mány összetétele, de a fejes során is módosul kissé a tej zsírtartalma. A különböző zsírtartalmú tejek – a kísérletben 1,5 és 2,8%-os zsírtartalmú ipari tejmin-tákkal dolgoztunk – zsírtartalmának összehasonlításához dietil-éter (vagy benzin), továbbá a minták számának megfelelő számú 50 cm³-es mérőhenger, 200 cm³-es rázótolcsér és Petri-csésze, valamint vízfürdő és mérleg szükséges [16]. Maga a vizsgálat extrahálással kombinált gravimetriás eljárás.

A mérést úgy végezzük, hogy a különböző zsírtartalmú minták 50-50 cm³-ét egy-egy rázótolcsérbe öntjük, majd 15 cm³ dietil-étert adunk hozzájuk és néhány percig intenzíven rázzuk az elegyeket. Miután elválasztottuk a vizes (alsó) fázist a szerves (felső) fázistól, 8-8 cm³ éteres oldatot öntünk minden ismert tömegű Petri-csészébe és vízfürdőn bepároljuk azokat. Az oldószer elpárolgása után visszamaradó anyag tömegét megmérve következtethetünk a minták zsírtartalmára.

Érdekességképpen meg lehet jegyezni, hogy a köznyelvben vannak egyéb „tej”-nek nevezett italok is (pl. rizstej, szójatej, kókusztej), melyeket nem szabad összekeverni az állati eredetű valódi tejjel. Mindazonáltal érdekes tény, hogy pl. a kókusztej zsírtartalma kimagaslóan magas, akár 17% is lehet. A tej mellett azért a különféle tejtermékek zsírtartalmáról is érdemes lehet néhány adatot megemlíteni, s talán még inkább célravezető, ha feladatul szabjuk a diákoknak, hogy maguk nézzenek utána az élelmiszerezletek polcain található sűrített tej, joghurt, kefir, tejföl vaj, sajt és túró összetételének.

3.7. Fehérjekimutató xantoprotein reakcióval

Öntsünk kémcsőbe mintegy 2 ml tejet és 1 ml tömény salétromsavat. A keveréket enyhén melegítsük, de nem szabad forralni. A vizsgálat eredményeként sárga színreakció figyelhető meg. A műveleteket nagy körültekintéssel kell végezni a tömény sav maró hatása miatt, főleg a melegítés során legyünk óvatosak.

A jelenség lényege, hogy a xantoprotein reakcióval azok a fehérjék (polipeptidok) mutathatók ki, amelyek

benzolgűrűs aminosavakat is tartalmaznak. Tömény salétromsav hatására ezek az aminosavak (fenilalanin, triptofán, tirozin) benzolgűrűi nitrálódnak, és ezáltal jellemző nitrovegyületekké alakulnak át. A „xanthos” görög szó sárgát jelent, a protein szó pedig a fehérjére utal, innen ered a reakció elnevezése. Mivel ezek az aromás gyűrűt tartalmazó aminosavak csaknem minden fehérjében megtalálhatók, ez a reakció a fehérjék egyik jellemző, általánosan is alkalmazható kimutatási módszere.

3.8. Mikrohullámú sütőben olvasztott sajt

Ma már szinte minden háztartásban van mikrohullámú sütő, amelynek alkalmazásáról már előző dolgozatunkban [3] is írtunk. A jelen kísérlet arra szolgál, hogy jobban megértsük, hogyan működik a sütő, azaz milyen természetűek a mikrohullámok. Érdekes a diákokkal tisztázni, hogy a „mikro” görög szó magyarul annyit jelent, hogy „kicsi”. Természetesen nem szabad összetévesztenünk a „mikro” előtaggal (prefixum), amit pl. a hossz mérték (méter) elé teszünk, és aminek határozott matematikai tartalma van: tíznek a mínusz hatodik hatványa. Viszont a mikrohullámok nem mikrométer (10⁻⁶ m) hosszúságú hullámok.

A kísérlethez szedjük ki a mikrohullámú sütő forgótányúját és helyette tegyük be egy akkora kartonlapot, amely teljesen lefedi a berendezés alját. A kartonlapot reszelt sajttal vagy lapka sajttal érdemes borítanunk úgy, hogy a sajt egyenletesen terüljön el a kartonon [18]. Majd kapcsoljuk be a sütőt kb. 30 másodpercre. A sajt bizonyos helyeken felhevül és megolvad (ezek a duzzadóhelyek) és máshol hideg marad (ezek a csomópontok). Magyarizzuk el a diákoknak, hogy a működő sütőben álló hullámok keletkeztek. A megolvadt sajtrészek távolságából következtethetünk az álló hullámok formájában megjelenő mikrohullámok hosszára. A tapasztalatok szerint az olvadt részek kb. 6 cm-re vannak egymástól, ez a teljes hullámhossz fele. Tehát a mikrohullámú sütőnk kb. 12 cm hosszúságú hullámokkal működik. Ha ezt behelyettesítjük a egyenletbe, akkor adódik, ami

2,5 GHz frekvenciájú elektromágneses hullámokat jelent. A valóságban egyébként ezek 2,45 GHz-es hullámok, s ez az egyszerű mérés nagyon jó becslést adott a frekvenciájukra is.

3.9. Ételfőzés kuktában

Az ételek kuktában való főzésének több előnye van, így pl. gyorsabban és energiatakarékosabban készül el az étel. Nézzük meg, hogy fizikus szemmel mi történik a kuktában való főzés során.

Bizonyos mennyiségű folyadékban (itt vízben) feltezzük főni az ételt, és lezárjuk a kukta fedelét. A zárt edényben a hőközlés hatására a folyadék fölött keletkező gőz nyomása jóval meghaladja a légköri nyomást (kb. 1 bar azaz 10⁵ Pa). Ilyen körülmények között a víz forráspontja magasabb lesz. Vagyis azon a hőfokon, amelyen légköri nyomás esetén már forrna a víz, a kukta fazékban még nem indul meg a forrás. A diákok számára érdemes tisztázni, hogy a forrás akkor következik be, amikor a külső légnyomás (itt a kuktában belül, a zárt térben lévő nyomás) egyenlő a folyadék telített gőzének nyomásával. Azaz a folyadék fölött lévő nagyobb nyomás nem engedi kiszabadulni a folyadékban keletkező gőzbuborékokat, s így nem indul meg a forrás. Emlékeztessük a diákokat arra, hogy a kuktában készítenő élelmiszer és a víz közötti kölcsönhatásból adódóan bizonyos anyagok (pl. sók, cukrok) a nyers élelmiszerből kioldódnak, és ezáltal adott összetételű oldat keletkezik, amelynek már önmagában is magasabb a forráspontja, mint a tiszta víznek.

Említsük meg, hogy konyhatechnikai szempontból is előnyös lehet a kuktafazék alkalmazása, hiszen csupán kevés vizet használva a készítenő ételek csak párolódnak, s nem pedig főnek, jobban megőrizve ezáltal a vitamin- és ásványianyag-tartalmukat. Természetesen a kukta fedelén lévő szeleppel szabályozható a nyomás, hiszen balesetveszélyes volna teljesen lezárt kuktában főzni.

Így is körültekintést igényel, amikor levesszük az ételt a tűzről. Vagy hagyni kell a kuktát magától kihűlni, vagy hideg vizes hűtéssel segíthetjük. Érdekes jelenség, hogy amikor levesszük a fedőt, forni kezdhet a kuktában lévő étel, mert a hőmérséklete még mindig magasabb lehet, mint a légköri (kisebb) nyomásnak megfelelő forráspont.

3.10. Karotinoidok kimutatása

A karotinoidok a növényi és állati szervezetekben egyaránt megtalálható lipidek. A vegyületeikben található konjugált kettős kötések π-elektronjai delokalizálódnak, így a látható fény fotonjai gerjeszteni képesek. A visszavert, az elnyelt (abszorbeálódott), illetve a kisugárzott fényenergia spektruma olyan, hogy a molekuláik színesek, s a szín a sárgától a vörösig változik.

A karotinoidok közé tartozik a paradicsom termésének piros színét adó *likopin*, a sárgarépa karógyökerének vagy a sütőtök termésének narancssárga színéért felelős *karotin*, illetve a növények fotoszintézisében a karotin mellett szerepet játszó sárga színű *xantofill*. Az állati és emberi szervezet számára fontos zsírsóban oldódó vitaminok közül a bőrvédő, és látásért is felelős *A-vitamin* szintén a karotinoidok közé tartozó karotin származék.

A vizsgálat során fontos az eszközök tisztán- és szárazon tartása, mert minimális mennyiségű nedvesség is zavarja a reakciót. A vizsgálatok során A-vitamin készítményt és sárgarépát használtunk, ezekből mutattuk ki a karotinoidok jelenlétét.

Az első vizsgálat során száraz kémcsőbe 2-3 csepp olajos A-vitamin készítményt teszünk, amelyhez 1 ml kloroformot adunk, és jól összerázzuk. Az így kapott oldatból néhány cseppet szűrőpapír közepére cseppentünk, mindig bevárva, amíg az előző csepp megszárad. A megszáradt foltra 2 csepp kloroformos antimon-trikloridot cseppentünk. Az A-vitamin így kék színreakciót ad.

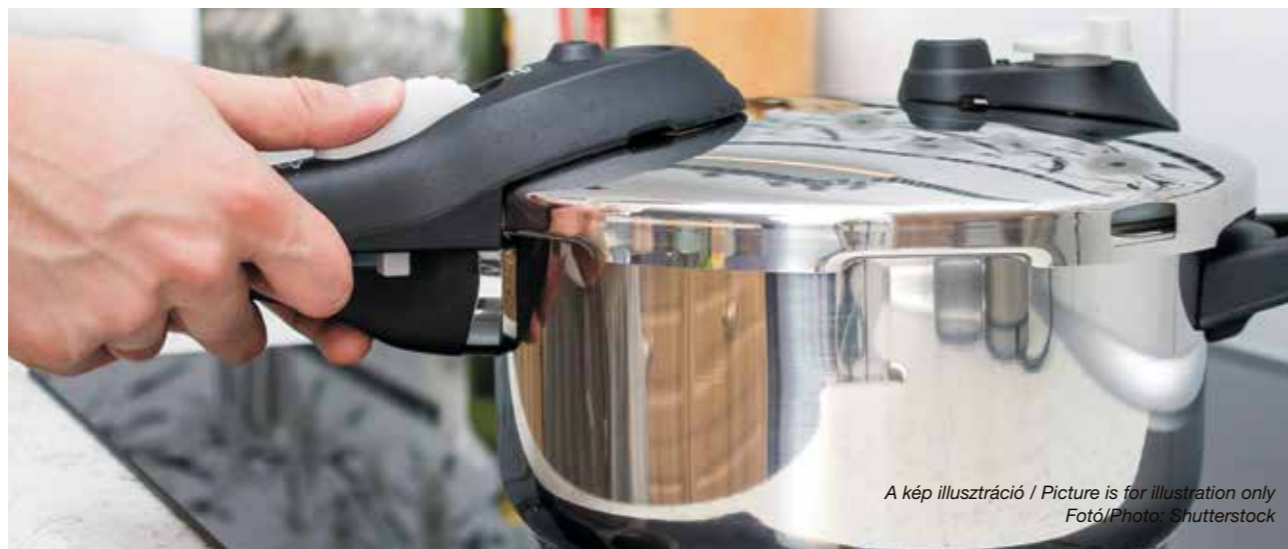
A második mérésnél lereszelt sárgarépából bemérünk 2-3 g-ot, majd mintegy 5 ml alkoholos kálium-hidroxid oldatot adunk hozzá és dörzsmozgásban jól eldörzsöljük. Pár perc múlva kis rázótolcsérbe öntjük át a folyékony részt, majd ugyanannyi kloroformot adunk hozzá. Az elegyet jól összerázzuk, majd az alsó kloroformos réteget száraz kémcsőbe engedjük. A kémcső tartalmát kevés vízmentes nátrium-szulfáttal összerázzuk, amíg az oldat kitisztul. Ebből az oldatból cseppentővel szűrőpapírra cseppentünk, mindig ugyanarra helyre. A beszáradt foltra 2 csepp kloroformos antimon-trikloridot cseppentünk. A sárgarépa karotin tartalma szintén kék színreakciót ad.

A színreakció magyarázata az, hogy az antimonionok a karotinoid molekulákhoz kémiaiilag kapcsolódnak, ezáltal megváltoztatják a delokalizált π-elektronrendszer fényelnyelését, és ez a változás okozza a kék szín megjelenését.

4. Következtetések

Úgy véljük, hogy a leírt tíz egyszerű, az élelmiszerek vizsgálatán, illetve az adott jelenségek élelmiszerek felhasználásával történő tanulmányozásán alapuló fizikai, kémiai és biológiai jellegű kísérlet, vizsgálat elvégzése, illetve ezek tanórákon történő bemutatása segíti a diákok ismereteinek bővítését a természettudományos tárgyakban. Továbbá a mérések adatainak megvitatása, értelmezése és természetesen a következtetések levonása a logikai készségüket is javítja.

Bízunk benne, hogy a kísérleteket a mindennapi életben a tanulók számára is jól ismert mezőgazdasági termékekkel és élelmiszerekkel végezve felkeltjük az érdeklődésüket a természettudományok és az élelmiszergazdaság összefüggései iránt.



A kép illusztráció / Picture is for illustration only
Fotó/Photo: Shutterstock

5. Irodalom

- [1] Szabó S.A., Izsák M., Bozi J. (2015): Általános - és középiskolás diákok kémia- és fizikaoktatása élelmiszer-vizsgálati kísérletek segítségével. Élelmiszervizsg. Közl., 61(2), 647-656.
- [2] Bozi J., Szabó S. A., Izsák M., Tiszáné Kósa E. I., Szabó G. L. (2016): Diákok kémia, biológia és fizika oktatása élelmiszervizsgálati kísérletek segítségével. Élelmiszervizsg. Közl., 62(1), 975-983, 2016(1).
- [3] Izsák M., Bozi J., Tiszáné Kósa E., Szabó G. L., Szabó S. A. (2016): Iskolai természet-tudományos képzés élelmiszervizsgálati kísérletek segítségével. Élelmiszervizsg. Közl., 62(3), 1177-1183.
- [4] Siposné Kedves É., Horváth B., Péntek L.-né (2013): KÉMIA tankönyv. Általános és szerves kémia, 9. osztály, Mozaik Kiadó, Szeged.
- [5] Gasztonyi K., Lásztity R. (szerk.) (1992): Élelmiszerkémia. Mezőgazda Kiadó, Budapest.
- [6] H.D. Belitz, W. Grosch, P. Schieberle (2004): Food chemistry. Springer Verlag, Berlin.
- [7] Szabó S. A. (2009): Komplex ízfelismerő képesség vizsgálata, az alapízkölcsönhatások összehasonlító érzékszervi felmérése. I.-II.-III.-IV.-V.-VI.-VII.-VIII. Élelmezési Ipar, 41(4), 138-140, 41(5), 181-182, 1987, 45(3), 101-103, 1991, 60(4), 119-121, 2006, 61(4), 125-127, 2007, 63(3), 88-90, 63(4), 119-120, 63(5), 154-155.
- [8] A.S. Szabo (1995): Investigation of interaction of basic tastes by organoleptic evaluation of foodstuffs. 9th World Congress of Food Science and Technology, 30.07-04.08. 1995, Budapest, book of abstracts, Vol. 1., p. 100.
- [9] A.S. Szabo (1995): Investigation of perceptibility of sweet taste in the presence of other aroma components. Study of interaction of basic tastes. Int. Symp. on Sweeteners, Jerusalem, Israel, 14-20 July, 1995, book of abstracts, p. 31.
- [10] A.S. Szabo (1998): Investigation of perceptibility of sweet taste in the presence of other aroma components, study of interaction of basic tastes. Publ. Univ. Hort. Ind. Aliment., 57, 23-27.
- [11] A. S. Szabo (2001): Investigation of interaction in perceptibility of sweet and bitter taste. IUPAC-ISS, 13-17 Nov., 2001, Hiroshima, Japan, Conf. book of abstracts, p. 57.
- [12] A.S. Szabo: Investigations for study of interaction in perceptibility of sweet and bitter tastes by sensory evaluation. J. Food Phys., XVII-XVIII, 77-84, 2004/2005.
- [13] Szabó S.A. (2008): Ízfelismerő képesség vizsgálata sós (nátriumklorid) ízre citromsav jelenlétében. Élelmiszervizsg. Közl., 64(3), 173-179.
- [14] Szabó S.A., Csóka M. (2005): Egyetemi hallgatók ízfelismerő és ízkülönbség-felismerő képességének vizsgálata. Élelmezési Ipar, 59(6-7), 189-191.
- [15] Rodler I.(szerk.) (2004): Táplálkozási ajánlások, adatok a tápanyagtáblázatból. Budapest, Nemzeti Népegészségügyi Program, OÉTI.
- [16] Rózsahegyi M., Wajand J. (1991): 575 kísérlet a kémia tanításhoz. 545. old., Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest.
- [17] Rózsahegyi M., Wajand J. (1991): 575 kísérlet a kémia tanításhoz. 553. old., Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest.
- [18] Dégen Cs., Elblinger F., Simon P. (2015): FIZIKA 11. OFI, Budapest.

MACHEREY-NAGEL

NANOCOLOR[®] VIS II és NANOCOLOR[®] UV/VIS II

Intelligens fotometria



NANOCOLOR[®] UV/VIS II
spektrofotométer
most akciós áron:
1.200.000,- Ft+Áfa

**- spektrofotométer
- zavarosságmérő és
- színmérő egyben**

NANOCOLOR[®] VIS II
spektrofotométer
most akciós áron:
750.000,- Ft+Áfa

- Forradalmian új kezelői élmény
- 10 colos HD érintőképernyő
- Önmagyarázó és teljesen ikonalapú menürendszer
- Integrált rendszer monitoring és zavarosság kontroll(NTU-Check)
- Előhívható piktogramos ismertető a mérési módszerekhez
- 6-féle automata készülékkontroll és 8-féle minőségbiztosítás
- 200 előkészített + 100 programozható automata módszer

KÉRJE Ön is a magyarnyelvű prospektusunkat!



Eszter Imola Tisza-Kosa¹, Andras S. Szabo¹, Gergely Levente Szabo², Margit Izsak¹, Janos Bozi¹

Received: 2016. June – Accepted: 2016. September

Teaching of natural sciences in schools with the help of food investigation experiments

Keywords: teaching of natural sciences in schools, analysis, food biology, food chemistry, food physics, measurement technique

1. Summary

Experiments are of primary importance in the teaching of scientific knowledge. In our experience, it is a welcome sight for students if the subjects of the experiments are substances well known to them, in this case, different foodstuffs. Once again, 10 simple experiments of physical, chemical and biological character are described in the following topics: color development and pH value, masking of taste recognition, reaction of egg whites with salt and lemon juice, identification of glucose and sucrose, preparation of effervescent powder, determination of the fat content of milk, xanthoproteic reaction, wavelength-determination with cheese in a microwave oven, cooking in a pressure cooker (Kukta pot), detection of carotenoids. Foodstuffs used in the measurements and experiments are: carrots, cheese, citric acid, egg whites, glucose, lemon juice, milk, powdered sugar, raspberry syrup, red beet juice, red wine, sodium bicarbonate, table salt, tartaric acid.

2. Introduction

In the previous articles [1], [2], [3] information was given about the dominant role of experiments in the teaching of subjects of natural science. Hopefully, education will be more successful and effective if the teaching programs for natural science contain experiments as well.

Our former papers dealt with 10 experiments each, belonging to the physical, chemical or biological type. Of course, there are no sharp boundaries between these fields, and presenting the connections is an important part of the modern method of education in the natural sciences. This paper provides information again about 10 simple experiments, covering the field of food investigations. The measurements can be carried out without problems in normal school labs, suitable for physical, biological and chemical investigations.

3. Descriptions of the proposed experiments of natural science

3.1. Why is red beet red, and does its color change as a function of the pH value?

It is written in the chemistry book [4] for 9th grade students, that it was stated by Boyle in the 17th century, that acids are those compounds, which change the color of plant extracts to red. An interesting phenomenon is also mentioned in the book: the color of the flowers of the ornamental shrub, garden morning glory (*Ipomoea purpurea*) depends on the time of day it is observed. In the morning, the color is dark blue and then during the day, due to the photosynthetic activity (physiological processes of assimilation change the pH of vegetable saps, and they gradually become acidic), the color changes to red.

The colored substances, giving red beet its characteristic color, belong to the group of anthocyanins (anthocyanidins). We investigated whether the color

of red beet juice changes if the pH is modified, by adding an acid (citric acid) or an alkaline substance (sodium bicarbonate) to the juice. In the case of red beet, there was no significant change in the color, the addition of citric acid produced a slightly more intensive red color, and the change in pH to the alkaline range did not modify fundamentally the original red color of the juice either. The conclusion: not (or not only) anthocyanin compounds are responsible for the red color of red beet juice. The reason: anthocyanins are present in the oxonium form in acidic media, but as a result of an increase in pH (alkalinization), a quinoidal structure is gradually formed, and the color changes step by step from red to a bluish tint [5], [6]. This is the same transformation that happens in case of the indicator known as litmus.

Let us mention, that the experiment was carried out with red wine as well. We found that acidification did not affect the color here either, however, alkalization affected the color significantly, the original color gradually developed a brownish-blueish tint.

3.2. Masking of aroma materials in raspberry syrup

It was proven in many earlier experiments [7], [8], [9], [10], [11], [12], [13], [14] that the perceptibility and recognition of taste intensity of flavor components in a system (in this case, foodstuffs) depends on the presence of other components as well. In the experiment, students tested the sweet taste of raspberry syrup in a 1:5 mixture, diluted with water. There were two samples, however, one sample was supplemented with 1% citric acid. The task was to recognize the sweeter sample: they had to write down which one they felt sweeter and whether they perceived any difference between the sweet flavors. The students had the possibility of tasting the samples again.

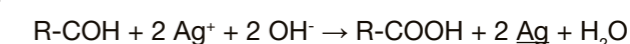
The typical flavoring substance in raspberry syrup is 4-(4-hydroxyphenyl)butanone, although it contains other flavoring agents as well - predominantly sugars and organic acids - and these components produce the sweet and sour taste. More than 80% of the students marked the sample, supplemented with citric acid, less sweet, while some of them could not distinguish between the two samples. Nobody felt the sample supplemented with citric acid sweeter. Thus, it can be concluded that the presence of citric acid in significant concentrations reduces the intensity of the sweet taste. Obviously, because in the perception process (stimulus-nerve stimulation-sense) the signal of the biosensor, detecting the presence of sweet flavoring substances is interfered with by the signal of biosensor, detecting the sour taste. In practice, for example, a similar incident occurs when consuming cherry and sour cherry fruits with approximately the same sugar concentrations, but cherries seem sweeter. It feels so because of the different acidities, the acidity of sour cherries (due primarily to malic acid, citric acid, succinic acid and ascorbic acid) is significantly higher than the value that can be measured in cherries [15].

3.3. Reaction of egg whites with table salt and lemon juice

In the experiment carried out with NaCl, egg whites were put in a test tube together with table salt and then, after some time, distilled water was added. Experimental evidence indicated that, when adding a small amount of salt, there was no change in the protein, however in the case of larger amounts, the protein precipitated, but could be redissolved by the addition of water. This phenomenon can be explained by the fact that the hydrate shell (water) of the protein molecules is removed by the hydration of the ions, therefore, the protein molecules are conjugated. However, when adding water, a hydrate shell forms again (the change is reversible). In the experiment carried out with lemon juice, the protein precipitated on the wall of the test tube and, in spite of the added distilled water, the protein did not dissolve. The explanation is that when acid is added to the egg protein, the structure of the proteins (called albumin in egg whites) is chemically changed. Thus, because of the influence of the acid, the protein is denatured and precipitates on the wall of the test tube, so the change is irreversible.

3.4. Identification of glucose and powdered sugar solutions

The task is to distinguish between and to identify glucose and sucrose solutions, using, e.g., Tollens' reagent, producing in the reaction a silver mirror. First, the reagent is prepared for the experiments, by putting in a test tube silver nitrate solution, and then adding ammonia solution until the precipitate, which forms initially, is dissolved. This reagent is added to the glucose and sucrose solutions. Test tubes are heated (using a gas burner or ethyl alcohol burner) and the changes are observed. It can be observed that, during the silver mirror test, in the test tube containing the glucose solution, metallic silver (a silver mirror) is precipitated. However, there is no change in the test tube containing the sucrose solution. This phenomenon can be explained by the fact that since glucose is a reducing monosaccharide, and the glucose molecules include formyl groups, glucose presents the typical reactions of aldehydes, such as silver mirror test as well. Sucrose is not a reducing disaccharide, the two rings that form its molecules do not open even in an aqueous solution, so formyl groups (CHO) cannot form either. Therefore, the sucrose solution does not produce a positive silver mirror test. The general equation of the silver mirror test:



Note that, when solutions of the same concentration (e.g., 2%) of both carbohydrates are prepared, the difference between them can also be detected organoleptically. This is so because the sweetness of glucose is substantially less intensive, than that of sucrose. So, in this case, the analytical task can also

¹ Ward Mária Elementary School, High School and Music Vocational School of Budapest

² Budapest Technical Vocational Center, Lajos Petrik Bilingual Chemical, Environmental and Information Technology Vocational School

be accomplished by applying the easiest and most natural measurement technique, the use of human biosensors.

3.5. Preparation of effervescent powder (and a soft drink from the powder)

Acid-base reactions are of great significance in the food chemistry as well. The dissolution of various effervescent tablets also starts with acid-base reactions. Dissolution is accompanied by gas evolution. Powders, similar to those used in effervescent tablets can be created easily in the chemistry lab, thus illustrating the operating principle of the real tablets and its chemical background.

For effervescent powder preparation - for demonstration purposes - use approximately 1 g of tartaric acid, 1 g of sodium bicarbonate (baking soda), and, additionally, for beverage production, about 10 g of granulated sugar and 100 cm³ of water is needed [16]. Tartaric acid and sodium bicarbonate were first pulverized in a mortar, then the mixture was poured into a beaker and water was added. As a result, vigorous effervescence is observed. When the sugar is dissolved in the beaker, a beverage with a pleasant taste is obtained.

The explanation of the violent effervescence of the effervescent powder during the dissolution is that the tartaric acid as a weak acid and sodium bicarbonate as a weak base react in an acid-base reaction with each other, whereby CO₂ gas is formed according to the following reaction:

The advantage of the experiment is that the required materials are readily available, and so the experiment may be carried out even at home by the students. It should be noted that even though in a chemistry lab, in principle, the consumption of food and drink is prohibited, provided that the hygiene conditions allow it, the explanation of the experiment can be carried out in the form of a common beverage consumption as well.

The experiment also provides a good opportunity to look back at the characteristics and differences of chemical and physical dissolution. However, this experiment can be used not only in the teaching material of the 9th grade, but also for the 10th grade, when discussing organic acids. In the latter case it is worth mentioning that tartaric acid is one of the very important representatives of organic acids in wine, while, as an acidity regulator and antioxidant, it is widely used in the food industry as well.

3.6. Comparative measurements of the fat content of milk samples

The fat content of commercially available cow's milk is mostly between 1.5 and 2.8%, although milk with a fat content in the range of 0.1 to 3.6% can occur.

However, the fat content of fresh milk from a cow is significantly higher, usually around 4%. Although the composition of milk produced by dairy cows considered to be fairly stable, the fat content of fresh milk is slightly affected by many factors, e.g., the breed of cattle, the season, the composition of the feed, and it can also change during the milking. To compare the fat content of milk samples with different fat content - we worked with industrial milk samples, containing 1.5 and 2.8% fat - we need ether (or petrol ether), 50 cm³ graduated cylinders (corresponding to the number of samples), a 200 cm³ separating funnel and Petri dishes, and, additionally, a water bath and a scale is required [16]. In essence, the measurement is a gravimetric method, combined with extraction.

For the investigation of the fat content of the samples, 50 cm³ of each milk sample was poured into a separatory funnel, 15 cm³ of diethyl-ether was added, and the mixtures were shaken vigorously for several minutes. After separating the aqueous (bottom) phase and the organic (upper) phase, 8-8 cm³ of the ether solution was poured into each Petri dish of known weight, and it was concentrated on a water bath. The fat content of the samples is calculated from the mass of the residues after evaporation. Interestingly, it may be noted that, in the common language, there are also other beverages called "milk" (eg., rice milk, soy -milk, coconut milk), which should not be confused with genuine milk of animal origin. However, it is an interesting fact that, for example, coconut milk has an extremely high fat content, up to 17%. In addition to milk, it is worth mentioning the fat content of different dairy products. Perhaps even more effective is to make the students look at the composition of condensed milk, yogurt, kefir, cream, butter, cheese and curd products, found on the shelves of food stores.

3.7. Detecting proteins using the xanthoproteic reaction

Pour into a test tube about 2 ml of milk and 1 ml of concentrated nitric acid. Warm the mixture gently, but do not boil it! Be very careful because of the very corrosive effect of concentrated acid, especially during heating! As a result, a yellow color reaction can be observed.

The essence of the explanation is that with the xanthoproteic reaction those proteins (polypeptides) can be detected, which contain benzene type amino acids. As an effect of concentrated nitric acid, the benzene rings of these amino acids (phenylalanine, tryptophan, tyrosine) are nitrated, and thereby converted into characteristic nitro compounds. The word "xanthos" is a greek word, meaning yellow, the word protein refers to the protein albumin, hence the name of the reaction. Since these amino acids with an aromatic ring are found in almost all proteins, this reaction for detection is a typical, commonly used method for proteins.

3.8. Microwave melted cheese

Today, almost every household has a microwave oven, about the application of which we have already written in our previous paper [3] as well. The present experiment is designed to understand the work of the oven better, that is, what type of waves are microwaves. We should clarify for the students, that "micro" is a greek word, which in english means "small". Of course, not to be confused with the "micro" prefix, which has a specific mathematical content when placed in front of, e.g., a unit of length: 10 to the -6th power. However, microwaves do not have micrometer (10⁻⁶ m) wavelengths.

For the experiment, there is a need to take out the rotating plate of the microwave oven and replace it with a piece of cardboard of such size that covers the bottom of the oven. The piece of cardboard is covered with grated cheese or a thin layer of cheese, evenly dispersed on the cardboard [18]. Next, turn on the oven for about 30 seconds. The cheese melts in certain areas (swelling places), while elsewhere it remains cold (these are the nodes, the nodal places of the waves). Explain to the students that, as a result of the electrical power, stationary waves have been generated in the oven. We can conclude that the distance between the melted parts of the cheese represents the wavelength of the stationary microwaves. Experience shows that the distance between the molten parts is approximately 6 cm, and this is half of the total wavelength. Thus, the microwave oven works with about 12 cm wavelength waves. If we substitute this into the equation then is obtained, meaning that the frequency of the electromagnetic waves is 2.5 GHz. In reality, these are 2.45 GHz waves, and so this simple measurement gives a very good estimation for their frequency.

3.9 Cooking in a pressure cooker (kukta pot)

The use of a pressure cooker for cooking and stewing food has several advantages, such as faster and more energy-efficient preparation of a meal. But what happens in the pressure cooker, looking at the process from a physics point of view?

We start cooking the food with a certain amount of liquid (here, water) in the pot, and close the cover of the pressure cooker. In the closed vessel, the pressure of the vapor, generated over the liquid as a result of the heat treatment, is well above atmospheric pressure (approximately 10⁵ Pa, i.e., 1 bar). Under such circumstances, the boiling point of water will be higher. That is to say at the temperature, where, at atmospheric pressure, the water would begin to boil, the water in the pressure cooker pot still does not start to boil. It should be explained to the students that boiling occurs when the external pressure (here, in a pressure cooker, the pressure in the closed space) is equal to the saturated vapor pressure of the liquid. I.e., the higher pressure above the liquid

does not allow the generated vapor bubbles to escape, and therefore boiling does not start. It should be noted that due to the interaction between the food to be prepared in the pressure cooker and the water, certain substances (e.g., salts, sugars) are dissolved from the raw food material and thereby a solution with a specific composition is formed, which itself has a higher boiling point than that of pure water.

In particular, even from a kitchen technique point of view, it is advantageous to use a pressure cooker, since by using only a small amount of water the foods to be prepared are stewed and not cooked, thereby preserving more of the vitamin and mineral content. Of course, with a valve on the pressure cooker lid, the pressure can be controlled, as it would be dangerous to use a completely sealed pressure cooker for cooking.

Still, we should work with caution when the food is removed from the heat. Either the pressure cooker should be left to cool by itself, or we can help with cold water cooling. It is an interesting phenomenon that when the lid is removed, the meal can start to boil in the pressure cooker, because the temperature can still be higher than the boiling point corresponding to the lower pressure.

3.10. Identification of carotenoids

Carotenoids are lipids, found both in plant and animal organisms. The π-electrons of the conjugated double bonds found in carotenoids are delocalized, so photons of visible light are capable of exciting them. The spectra of the reflected, absorbed or emitted light energy are such, that the molecules are colorful, and the color ranges from yellow to red.

Carotenoids include lycopene, the substance responsible for the red color of tomatoes, carotene, providing the orange color of the root of carrots or the fruit of pumpkin, and also the yellow xanthophylls, playing an important role in plant photosynthesis together with carotene. The fat-soluble vitamin, vitamin A, which is important for animals and the human body in skin protection and healthy vision is also a carotene derivative, belonging to the group of carotenoids.

During the test, it is very important to use clean and dry equipment, because even a minimal amount of moisture can interfere with the reaction. For the tests, a vitamin A preparation and carrots were used, and the detection of carotenoids was carried out from these substances.

For the first measurement, 2-3 drops of the oily vitamin A preparation is placed in a dry test tube, to which 1 ml of chloroform is added and shaken well. A few drops of the solution obtained are spotted in the middle of a filter paper, always waiting until the previous droplet dries. When the stain is dry, 2 drops of antimony trichloride, dissolved in chloroform are

added. Vitamin A provides a blue color reaction. In the second measurement, 2-3 g of grated carrots are mixed with about 5 ml of an alcoholic potassium hydroxide solution, and it is triturated well in a mortar. After a few minutes, pour the liquid into a small separating funnel, adding the same amount of chloroform to it. The mixture is shaken thoroughly, and the lower chloroform layer is drained into a dry test tube. The material of the test tube is shaken with small amount of anhydrous sodium sulfate until the solution becomes clear. A few drops of this solution are spotted on a filter paper with a dropper, always in the same place. Then on the dried stain two drops of antimony trichloride, dissolved in chloroform, are spotted. The carotene content of the carrots also gives a blue color reaction.

The explanation for the color reaction is that antimony ions chemically bind to the carotenoid molecules, thereby changing the light absorption of the delocalized π -electron system, and this change causes the appearance of the blue color.

4. Conclusions

We believe that the described 10 simple experiments of physical, chemical and biological nature, based on the investigation of foodstuffs and the study of the phenomena using foodstuffs, and the presentation of these experiments in the class helps students to prepare for natural science subjects. In addition, the discussion of the measurement data, interpretation, and of course the drawing of conclusions will improve their logical skills as well. And the fact that the experiments were performed with agricultural products and foodstuffs well-known to students in everyday life, strengthens our hope that useful information was given to students also about food and nutrition, arousing their interest in the food sector.

5. References

- [1] A.S. Szabo, M. Izsak, J. Bozi: Teaching of chemistry and physics in elementary and high schools with help of food science experiments. *J. Food Investigation*, 61(2), 647-656, 2015.
- [2] J. Bozi, A.S. Szabo, M. Izsak, E. Tisza-Kosa, G.L.Szabo: Teaching chemistry, biology and physics with the help of food analytical experiments. *J. Food Investigation*, 62(1), 990-995, 2016.
- [3] M. Izsak, J. Bozi, E.I. Tisza-Kosa, G.L. Szabo, A. S. Szabo: Education of natural science in schools with help of experiments of food investigations. *J. Food Investigation*, 62(3), 1184-1189, 2016.
- [4] E. Sipos-Kedves, B. Horvath, L. Pentek: Chemistry textbook. General and inorganic chemistry, Class 9, Mosaic Publ. House, Szeged, 2013.

- [5] K. Gasztanyi K., R. Lasztity (eds.): Food chemistry. Mezőgazda Publ. House, Budapest, 1992.
- [6] H.D. Belitz, W. Grosch, P. Schieberle: Food chemistry. Springer Verlag, Berlin, 2004.
- [7] A.S. Szabo: Investigation of complex taste recognition ability, comparative sensory measurements of interactions of basic tastes. I.-II.-III.-IV.-V.-VI.-VII.-VIII, *Food Industry*, 41(4), 138-140, 41(5), 181-182, 1987, 45(3), 101-103, 1991, 60(4), 119-121, 2006, 61(4), 125-127, 2007, 63(3), 88-90, 63(4), 119-120, 63(5), 154-155, 2009.
- [8] A.S. Szabo: Investigation of interaction of basic tastes by organoleptic evaluation of foodstuffs. 9th World Congress of Food Science and Technology, 30.07-04.08. 1995, Budapest, book of abstracts, Vol. 1., p. 100.
- [9] A.S. Szabo: Investigation of perceptibility of sweet taste in the presence of other aroma components. Study of interaction of basic tastes. Int. Symp. on Sweeteners, Jerusalem, Israel, 14-20 July, 1995, book of abstracts, p. 31.
- [10] A.S. Szabo: Investigation of perceptibility of sweet taste in the presence of other aroma components, study of interaction of basic tastes. *Publ. Univ. Hort. Ind. Aliment.*, 57, 23-27, 1998.
- [11] A. S. Szabo: Investigation of interaction in perceptibility of sweet and bitter taste. IUPAC-ISS, 13-17 Nov., 2001, Hiroshima, Japan, Conf. book of abstracts, p. 57.
- [12] A.S. Szabo: Investigations for study of interaction in perceptibility of sweet and bitter tastes by sensory evaluation. *J. Food Phys.*, XVII-XVIII, 77-84, 2004/2005.
- [13] A.S. Szabo: Investigation of the ability of taste-recognition for salty taste (sodium-chloride) in presence of citric acid. *J. Food Investigations*, 64(3), 173-179, 2008.
- [14] A.S. Szabo, M. Csoka M.: Investigation of the abilities of taste-recognition and recognition of the difference in taste-intensity for students. *Food Industry*, 59(6-7), 189-191, 2005.
- [15] I. Rodler (ed.): Propositions for Nutrition, Dietary Guidelines, nutrient data in tables. Budapest, National Public Health Programme, National Institute of Food and Nutrition, 2004.
- [16] M. Rozsahegyi, J. Wajand J.: 575 experiments for chemistry teaching. p. 545., National Textbook Publisher, Budapest, 1991.
- [17] M. Rozsahegyi, J. Wajand J.: 575 experiments for chemistry teaching. p. 553., National Textbook Publisher, Budapest, 1991.
- [18] Cs. Degen, F. Elblinger, P. Simon: PHYSICS 11. Educational Research and Development Institute, Budapest, 2015.



ÚJ
BC TEMPO BC
Bacillus cereus csoport
 megszámlálására 22 órán belül
AOAC és ISO 16140
 validált

tempo
 THE 1st AUTOMATED QUALITY INDICATOR SOLUTION

Minden körülmények között megbízható minőségellenőrzésre van szüksége?

TEMPO® biztosítja

- a személyzet irányításának optimalizálását
- a munkaterhelés változékonyságának kezelését
- a pontos és időszerű eredményt
- |||| a nyomon követhetőséget

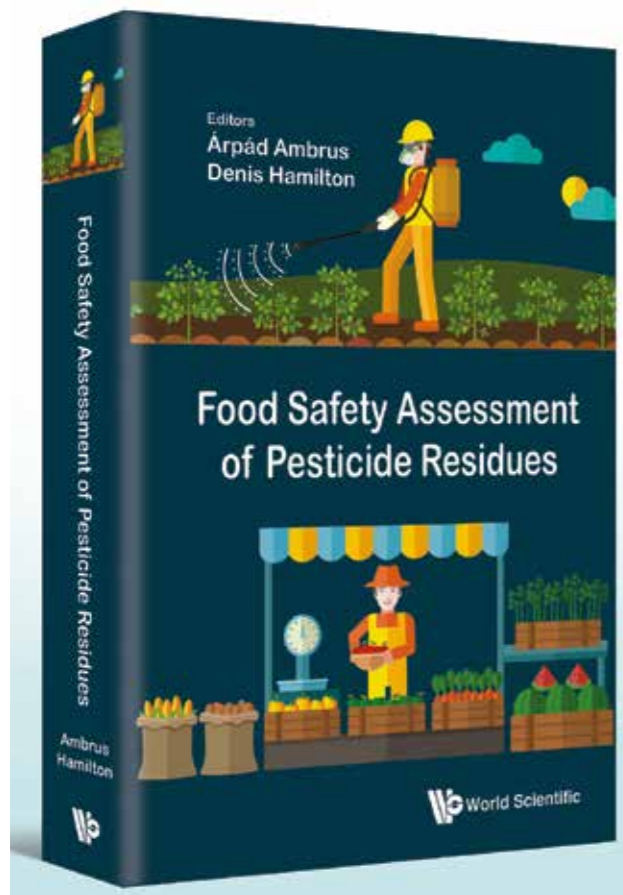
TEMPO az innovatív megoldás minőségi mutatók meghatározására élelmiszerekben és környezeti mintákban



bioMérieux Hungária Kft.
 1138 Budapest, Váci út 175.

Tel.: (36) 1 231-3050
 Fax.: (36) 1 231-3059
 email: info.hu@biomerieux.com
www.biomerieux.com

BIOMÉRIEUX
 INDUSTRY
 PIONEERING DIAGNOSTICS



A növényvédőszer-maradékok értékelése élelmiszerbiztonsági szempontból

Szerkesztők: Ambrus Árpád, Denis Hamilton

Ma már elfogadott tény, hogy a növényvédő szerek a modern mezőgazdasági termelés szerves részét képezik. Ez a könyv azokat a lépéseket elemzi, amelyeket a nemzeti és nemzetközi szervezetek tesznek egy egységes stratégia kidolgozása érdekében a jóváhagyott növényvédő szerek felhasználásából származó szermaradékok biztonságosságának kiértékelésére élelmiszerekben. Szintén leírja az ENSZ Élelmezésügyi és Mezőgazdasági Szervezetének (FAO), az Egészségügyi Világszervezetnek (WHO), valamint a Codex Alimentarius Főbizottságnak a szerepét azoknak a szabványoknak a kialakításában, amelyek védik a fogyasztók egészségét és biztosítják a tisztességes gyakorlatot az élelmiszer-kereskedelemben. Ezen kívül megvizsgálja a helyes mezőgazdasági gyakorlat elősegítésének lehetőségeit a növényvédő szerek felhasználásának területén, és az ellenőrzés szükségességét gyakorlati alkalmazásuk során. Ide tartozik a mintavétel, a forgalmazott termékek törvényi határértékeknek való megfelelésének vizsgálata, és a biztonság alapú szabályozási intézkedések hatékonyságának igazolása.

Olvasói kör: Speciális könyv azok számára, akik a nemzetközi élelmiszerbiztonság területén kívánnak tevékenykedni, a témával foglalkozó diákoknak és előadóknak, közegészségügyi és mezőgazdasági kérdéseken dolgozó döntéshozóknak, valamint a növényvédő szer készítmények és maradékok mintázását és vizsgálatát végző munkatársaknak.

A könyv tartalomjegyzéke megtekinthető a www.eviko.hu honlap „letölthető dokumentumok” menüpontjában.

Food Safety Assessment of Pesticide Residues

Editors: Árpád Ambrus, Denis Hamilton

Pesticides are now accepted as an integral part of modern agricultural production. This book provides analysis of the steps taken by national and international bodies working towards a cohesive global strategy for evaluating the safety of residues in food that result from approved pesticide uses. Also described is the role of the UN Food and Agriculture Organization (FAO), World Health Organization (WHO) and Codex Alimentarius in developing standards that protect the health of the consumers and ensure fair practices in the food trade. It goes on to look at the promotion of good agricultural practice in the use of pesticides and the need for control in their practical use. These include sampling, testing the compliance of marketed products against legal limits and verifying the effectiveness of the safety-based regulatory measures.

This is a specialist book for those looking to go into the field of international food safety, for students and lecturers studying the topic, for policy makers working on public health and agricultural issues, and personnel responsible for taking samples and performing the analysis of pesticide formulations and residues.

Readership: Specialist book for those looking to go into the field of international food safety, students and lecturers studying the topic, policy makers working on public health and agricultural issues, and personnel responsible for taking samples and performing the analysis of pesticide formulations and residues.

Contents of the book is available on the website www.eviko.hu „Downloads” section.



Élelmiszer-hamisítás és kimutatása

Szerzők: Csapó János, Albert Csilla, Csapóné Kiss Zsuzsanna

Amióta az emberiség elkezdett élelmiszereket termelni, az élelmiszertermeléssel együtt megjelent az élelmiszer-hamisítás. Az élelmiszer-hamisítás legelső írásos emlékei az ókorból maradtak ránk. Hammurápi törvényei tiltják a gyenge minőségű vagy a túlzottan drága sörök árusítását, és aki ezeket a törvényeket megszegte, komoly büntetésre számíthatott; ez a tevékenység akár az életébe is kerülhetett. Írásos emlékeink vannak arról, hogy a Római Birodalomban hamisították, elsősorban vizezték a bort, amit ugyan csak szigorúan büntettek. Napjainkban a lelketlen élelmiszer-termelők és kereskedők szinte mindent hamisítanak, ezért a hamisítással párhuzamosan kidolgoztak olyan eljárásokat, amelyek alkalmasak hamis élelmiszerek kimutatására, a hamisítás tényéről adnak információt.

Az újabb korokban hamisították például a tejet, hiszen annak vizezése egyszerűen megvalósítható a víz olcsó és könnyen elérhető volta miatt. Angliában az 1800-as éveket megelőzően a tej kútvízzel történő hamisítása napi gyakorlat volt, ami csak akkor szorult vissza, amikor az 1800-as évek végén a tejhamisítás kimutatására alkalmas kémiai módszereket dolgoztak ki. A tejhamisítás ma sem szünetel, hiszen isme-

reteink szerint bizonyos országokban és vidékeken napi gyakorlat a vizezés elfedése só hozzáadásával, illetve esetenként étolajat és detergenset adnak a tejhez a zsírtartalom megnövelésére.

Ugyancsak jelentős mennyiségben hamisítják a tejből készült és rendkívül drága sajtokat. Az első hamisításra az Egyesült Államokban az 1870-es években került sor, amikor rájöttek, hogy a jó minőségű wisconsini sajtokat olcsó zsírokkal, például disznózsírral hamisították, azok tömegének megnövelése céljából. Mióta a hamisítás ténye kiderült, az ilyen sajtok exportja visszaesett, elvesztették jó hírüket, amelynek visszaszerzése hosszú évtizedeket vett igénybe. A hamisítás ténye ma sem szűnt meg, a nagyon drága sajtokat ma is próbálják utánozni, holott ezek minősége meg sem közelíti az esetenként több évig érlelt, kiváló minőségű, éppen ezért keresett és nagyon drága sajtokat.

Jelen könyvünk a Sapientia Erdélyi Magyar Tudományegyetem Kolozsvár, Csíkszeredai Kara hallgatói számára készült. Reményeink szerint e könyvet a leendő élelmiszermérnökök mind a BSc, mind az MSc képzés során hasznosítani tudják, sőt talán a leendő új szakok hallgatóinak is segítségére lesz tanulmányaik során. A könyv megírásakor figyelemmel kellett lenni a karon kialakult hagyományokra, hogy a könyvben szereplő analitikai módszerek kapcsolódjanak az egyéb tárgyak keretében oktatott anyaghoz, ezért egy olyan könyvet szerettünk volna írni, amelyet a hallgatók több tárgy gyakorlati oktatása során is hasznosítani tudnak.

A könyv első három fejezetével az volt a célunk, hogy a hallgatók megismerjék azokat az analitikai kémiai módszereket, amelyeket az élelmiszerhamisítás kimutatására használnak a mindennapi gyakorlatban. A könyv rövid minőségi kémiai analízissel indul, ezt nagyobb terjedelmű klasszikus mennyiségi kémiai analízis követi. E fejezetekben a hallgatók megismerkedhetnek a minőségi és mennyiségi analízis menetével, az acidi-alkalimetriával, az oxidációs-redukciós, valamint csapadékos titrálási módszerekkel, legvégül pedig a komplex vegyületek képződésén alapuló meghatározásokkal. Az élelmiszerek főbb komponenseinek meghatározására kifejlesztett módszerek tárgyalásáról szóló rész elején a nedvességtartalom meghatározásával és különböző spektroszkópiai módszerekkel ismerkedhetnek meg a hallgatók. A továbbiakban a nitrogéntartalmú anyagok meghatározásával, ezen belül a fehérjetartalom, a fehérjefrakciók, illetve a fehérje aminosav-összetételének meghatározását mutatjuk be. Kiemelten foglalkozunk az élelmiszerek egyik legrágább komponensével, a fehérjével, és próbálunk minden olyan módszert ismertetni, amelyek alkalmasak a fehérje minősítésére. A zsírtartalom és a zsírsav-összetétel meghatározását követően a nyersrost, a nyersrost-frakciók vizsgálatát tárgyaljuk. A nitrogénmentes kivonható anyagok sorában meghatározzuk a cukrokat és a keményítőt, és

vizsgáljuk a különböző cukortartalmú készítmények tulajdonságait is. Jelentős helyet szentelünk a provitaminok és vitaminok meghatározásának, valamint a mikotoxinoknak. A legtöbb fejezetet „Válogatott fejezetek” című összeállítás zár, amelyekben speciális élelmiszeranalitikai módszereket ismertetünk.

Ezt követően a könyv a leggyakrabban előforduló élelmiszerek hamisításával és a hamisítás kimutatásainak lehetőségeivel foglalkozik. Az általános fejezetben az élelmiszer-hamisításról van szó: Milyen hatósági intézkedéseket lehet tenni az élelmiszer-hamisítás esetén? Milyen hamisítás elleni országos szervezetek léteznek? Mi a hamisítás elleni nemzeti stratégia? Milyen előnyök származnak az élelmiszer-hamisítás elleni fellépésből? Büntethető-e az élelmiszer-hamisítás? Ezt követően speciális élelmiszer-hamisítási esetek és a hamisítások kerülnek ismertetésre. Szólunk a tej és tejtermékek hamisításáról, ezen belül a különféle állatfajtáktól származó tejelekről és azok hamisításáról, az anyatej hamisításáról egyéb tejekkel, a szójatejről a tehéntejben, a savó és az író kimutatásáról, a tej vizezéséről és annak kimutatásáról, a tej és tejtermékek hőkezeltségének meghatározásáról, és a gyulladáshoz vezető kóros összetételű tej, valamint a fogyasztásra alkalmatlan, romlott tej mennyiségének kimutatásáról.

A következő fejezetben a hús és a húspari termékek hamisításáról, ezen belül többek között a különböző fajok húsának azonosításáról, a hús frissességének meghatározásáról, a hús és a hal műszeres minőségének méréséről, a hústartalmú ételek minőségéről, a húsételek szennyezettségének kimutatásáról, a darált húsok minőségének meghatározásáról, és a húsadalékokról és kiegészítőkről van szó. A gabonafélék szennyeződéseinek és hamisításának kimutatása során a gabonában előforduló szennyeződések, a különféle gabonakeverékekre és azok hatásáról a tulajdonságokra, a különféle rizsfajták megkülönböztetésére, a gabonafélék, hüvelyesek és keverékek hamisítására, a búza és a lisztek minőségét befolyásoló indexekre, és a gabonafélék és a belőlük készített termékek mikrobiológiai minőségére szolgáló módszerekre térünk ki.

A zöldségek, gyümölcsök és belőlük készült élelmiszerek hamisítási lehetőségeinek ismertetése során tárgyaljuk a gyümölcs és zöldséglevék minőségére alkalmas vizsgálatokat, a gyümölcslevek egymáshoz keverésének kimutatását, és a gyümölcsök és zöldségek érettségi és romlottsági fokára utaló paramétereket. Ezt követi az étkezési olajok és zsírok hamisításának lehetőségeit tárgyaló fejezet, majd a technológia hatását tárgyaljuk az élelmiszerek összetételére. A könyv egy olyan fejezettel zárul, amely a közelmúlt nagy botrányt keverő élelmiszer-hamisításait tárgyalja. Ismertetjük a csecsemőtápszerek melaminnal történt hamisítását, valamint a hamisítás kimutatására alkalmas módszereket. Emellett szóba kerül még az élelmiszerek dioxintartalma,

hatása az emberi szervezetre és a dioxin kimutatása, valamint a méz hamisítása és annak kimutatása. Nemzeti italunk, a bor hamisítása kapcsán az olvasó megismerkedhet a szőlő, a must és a bor kémiai összetételével, a borkészítés során lezajló biokémiai változásokkal, a bor fejlődésének kémiájával, tárgyaljuk a borhamisítás leleplezésére alkalmazott korabeli módszereket, a borhamisítás jelenlegi helyzetét, és ismertetünk néhány példát hamisításának kimutatására nagyműszeres analitikai kémiai technikákkal. A könyv a pálinka hamisításával és a hamisítás kimutatásával foglalkozó fejezettel zárul.

A könyv írása során igyekeztünk a fejezeteket úgy összeállítani, hogy azok megismerésére és végzésére az Élelmiszer-tudományi tanszék műszereire és eszközeire alapozva a hallgatónak lehetőségük legyen. A fejezeteket próbáltuk úgy egymásra építeni, hogy a hallgató az egyszerűbb vizsgálatoktól folyamatosan jusson el a bonyolultabb vizsgálatokig, megismerve az élelmiszerek analízisének és a hamisítás kimutatásának legfontosabb lépéseit.

A könyv tartalomjegyzéke megtekinthető a www.eviko.hu honlap „letölthető dokumentumok” menüpontjában.

Food adulteration

Authors:

János Csapó, Csilla Albert, Zsuzsanna Csapóné Kiss

This „Food adulteration” book was written for the students of the Faculty of Csíkszereda of the Sapientia Hungarian University of Transylvania. The authors hope that this book will be used also by the students of the prospective branch for foodstuff and environmental engineering, and even it may also provide help for the students of the new branches during their studies. When writing this book the authors had to take into account the traditions of the faculty, so the analytical methods contained in this book are associated with the materials taught in the framework of other subjects. Thus, the authors’ intention was to write such book to the students which could be used during the practical teaching of several subjects.

This book starts with a brief qualitative chemical analysis, followed by a longer classical quantitative chemical analysis. In these chapters the students can gain knowledge on the course of the qualitative and quantitative analysis, acidi-alkalimetry, the oxidation-reduction as well as the precipitation titration methods, finally on the determinations based on the formation of complex compounds. After these chapters the methods developed for the determination of the main foodstuff components are being dealt with. At the beginning of this part, after the determination of the moisture contents, the determination of mineral components and different spectroscopic methods are discussed. Afterwards, the determination of the

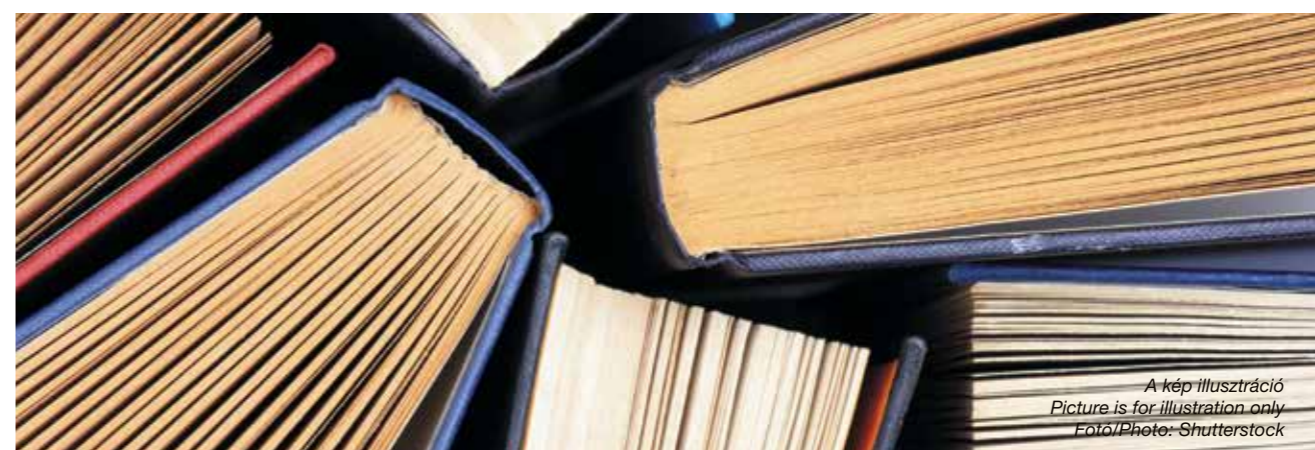
nitrogen-containing substances, more closely the determination of the protein contents, protein fractions and amino acid composition of proteins is treated. The authors put emphasis on the most expensive foodstuff component, the proteins, and try to discuss every method that is suitable for the evaluation of protein quality. Subsequent to the determination of fat contents and fatty acid composition, examination of crude fibre and fibre fractions is treated. Among the nitrogen free extractable substances the sugars and starch are determined, and properties of various sugar-containing preparations are examined as well. A special place is devoted to the determination of provitamins and vitamins, as well as to mycotoxins. As a closing compilation, at the end of most of the chapters there are so called „Selected chapters”, in which specific foodstuff analytical methods are discussed.

In the next part of the book the authors deal with the food falsification in general, the foods sophistication nowadays, food sophistication and its legal background, the national organizations and the strategy against food sophistication. Following this special food sophistication cases and the demonstration of the sophistication are discussed. This part deals with the sophistication of milk and dairy products, milk from different animals and their sophistication, soy milk in cow’s milk, other possibilities of adulteration of milk and dairy products and the determination of heat treatment of milk and dairy products. Thereafter the sophistication of meat and meat products is debated including the identification of the meat from different species by electrophoresis and immunological methods, fat and fatty acid analysis and using biochemical indexes. In addition the determination of the freshness of meat, instrumental analysis of the quality of meat and fish, the qualifying of the foods made from meat and meat additives and accessories is discussed. Thereafter the food grains, contaminants and demonstration of sophistication is explained including contaminants in grain, differentiation of the rice varieties, the grains, legumes and their blends, qualifying indices at wheat and other flours and methods for the determination of the microbial quality of grains and grain products is discussed.

Subsequently the fruits, vegetables and their products, the examinations for the qualification of fruit and vegetable juices, the demonstration of shell homogenizate from lemon and orange juices, the dilution of the fruit juices with water, the analysis of stable isotopes, the demonstration of the mixing of different fruit juices and the parameters indicating the degree of maturation and depravity of fruits is described. Then the edible oils and fats, the indicators measuring changes during storage and the demonstrating of the heat treatment of oils, the toxic contaminants and adulterants, the methods for the demonstration of the admixtures, blends, contaminants and adulterants of one fat in another, the blends of vegetable oils and analysis of the blends animal fats is discussed. Thereafter the investigation for the changes in the quality during the food processing, the effect of heat treatment for the composition of food, the chemical markers and indices for the demonstration of the changes during storage and for marking the irradiation of the foods is negotiated. At the end of the book some examples for food adulteration from the recent years including adulteration of the baby formulas with melamine and its demonstration, adulteration of the taumatin sweetener and the methods capable for the demonstration, effect of the dioxin content of foods for the human body and its demonstration, the adulteration of the honey, and its demonstration, and at last the adulteration of wine and snaps is negotiated.

During the course of the writing of this book the authors tried to compile the chapters so that the students also have the possibility to carry out the discussed examinations based on the instruments of the Department of Foodstuff Science. The authors tried to build the individual chapters upon each other so that the students can get stepwise from the simpler examinations to the more complicated ones, obtaining knowledge on the most important steps of the foodstuff analysis and the identification of the falsification of food.

Contents of the book is available on the website www.eviko.hu „Downloads” section.



A kép illusztráció
Picture is for illustration only
Fotó/Photo: Shutterstock

Kurucz Csilla¹

Nemzeti szabványosítási hírek

2017. évben honosítás alatt álló európai vagy nemzetközi szabványok:

ICS 65.120 Takarmányfélék

MSZ EN 16160:2012 Takarmányok. A ciánsav meghatározása HPLC-vel

MSZ EN 16877:2017 Takarmány. Mintavételi és elemzési módszerek. A T-2 és a HT-2 toxinok, valamint a deoxinivalenol és a zearalenon meghatározása takarmányanyagokban és összetett takarmányban LCMS-sel

ICS 67.060 Gabonafélék, hüvelyesek és a belőlük származó termékek

MSZ EN ISO 16634-2:2016 Élelmiszerek. Az összes nitrogéntartalom meghatározása a Dumas-elv szerinti égetéssel és a nyersfehérje-tartalom kiszámítása. 2. rész: Gabonafélék, hüvelyesek és gabonaőrlemények (ISO 16634-2:2016)

MSZ EN ISO 6540:2010 Kukorica. A nedvességtartalom meghatározása (hántolt és egész szemek) (ISO 6540:1980)

MSZ EN ISO 5529:2010 Búza. A szedimentációs index meghatározása. Zeleny-teszt (ISO 5529:2007)

A következő felsorolásban szereplő szabványok megvásárolhatók vagy megrendelhetők az MSZT Szabványboltban (1082 Budapest VIII., Horváth Mihály tér 1., telefon: 456-6893, telefax: 456-6884, e-mail: Kalmár Györgyné, gy.kalmar@mszt.hu; levélcím: Budapest 9., Pf. 24, 1450), illetve elektronikus formában beszerezhetők a www.mszt.hu/webaruhaz címen.

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

2016. december–2017. február hónapban bevezetett szabványok:

ICS 07.100.20 Víz mikrobiológiája

MSZ EN ISO 14189:2017 Vízminőség. Clostridium perfringens számlálása. Membránszűrési módszer

(ISO 14189:2013)

07.100.30 Élelmiszer-mikrobiológia

MSZ CEN/TR 16059:2016 Élelmiszer-vizsgálatok. Egyetlen laboratórium által validált vizsgálati módszerek teljesítményjellemzői mikotoxinok meghatározása esetén (magyar nyelven megjelent)

13.060 Vízminőség

MSZ EN ISO 5667-6:2017 Vízminőség. Mintavétel. 6. rész: Útmutató a folyók és patakok mintavételéhez (ISO 5667-6:2014)

MSZ EN ISO 5667-14:2017 Vízminőség. Mintavétel. 14. rész: Útmutató a környezeti vízmintavétel és -kezelés minőségbiztosításához és -ellenőrzéséhez (ISO 5667-14:2014)

MSZ EN ISO 7027-1:2016 Vízminőség. A zavarosság meghatározása. 1. rész: Kvantitatív módszerek (ISO 7027-1:2016) (magyar nyelven megjelent), amely visszavonta az MSZ EN ISO 7027-1:2000-et

MSZ EN ISO 17294-2:2017 Vízminőség. Az indukív csatolású plazma sugárforrású tömegspektrometria (ICP-MS) alkalmazása. 2. rész: A kiválasztott elemek meghatározása, beleértve az uránizotópokat is (ISO 17294-2:2016) amely visszavonta az MSZ EN ISO 17294-2:2005-öt

65.120 Takarmányanyagok

MSZ EN 16877:2017 Takarmány. Mintavételi és elemzési módszerek. A T-2 és a HT-2 toxinok, valamint a deoxinivalenol és a zearalenon meghatározása takarmányanyagokban és összetett takarmányban LCMS-sel

ICS 67 Élelmiszeripar

67.200.10 Állati és növényi zsírok és olajok

MSZ EN 14112:2016 Zsír- és olajszármazékok. Zsírsav-metil-észterek (FAME). Az oxidációs stabilitás meghatározása (gyorsított oxidációs vizsgálat), amely visszavonta az MSZ EN ISO 14112:2004-et

71.100.60 Illóolajok

MSZ ISO 8896:2017 Konyhakömény (*Carum carvi* L.) –olaj (magyar nyelven megjelent)

MSZ ISO 13171:2017 Szurokfű [*Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) Letsw.] –olaj (magyar nyelven megjelent)

2016. december–2017. február hónapban helyesbített szabványok:

MSZ 9600:2016 Útmutató a szeszes italok érzékszervi vizsgálatához

MSZ EN ISO 520:2011 Gabonafélék és hüvelyesek. Az ezermagtömeg meghatározása (ISO 520:2010)

2016. december–2017. február hónapban visszavont szabványok:

MSZ 788:2003 A cukor mikrobiológiai vizsgálata

MSZ 3640-1:1988 Húsok és húsalapú élelmiszerek mikrobiológiai vizsgálata. Fogalom meghatározások

MSZ 3640-5:1981 Húsok és húsalapú élelmiszerek mikrobiológiai vizsgálata. A mintavétel általános előírásai

MSZ 6367-17:1989 Élelmezési, takarmányozási, ipari magvak és hántolt termények vizsgálata. A közeli infravörös reflexiós spektroszkópia alkalmazása

MSZ 6369-6:2013 Lisztvizsgálati módszerek. 6. rész: A tészták fizikai tulajdonságai. A magyar minőségi ér-

tékszám (MÉSZ) meghatározása és értékelése

MSZ 6891:1989 Az élő aerob mikroorganizmusok számlálása bikaspermában

MSZ 8761-2:1986 Sör. Mintavétel, tételminősítés

MSZ 8761-8:1989 Sör. Mikrobiológiai vizsgálat

MSZ 8800:1983 Izoszörp mikrobiológiai vizsgálata

MSZ 15479:1980 Margarin mikrobiológiai vizsgálata

MSZ 20499-2:1985 Konzervált gyümölcszúrok. Mintavételi eljárás

MSZ 20501-4:1982 Sütőipari termékek vizsgálati módszerei. Mikrobiológiai vizsgálatok

MSZ 20633-2:1985 Cukordrazsé. Mintavétel, vizsgálat és minősítés

MSZ 20986:1985 Ostyák mintavétele, vizsgálata és minősítése

MSZ 21360-2:1984 Gyorsfagyasztott élelmiszerek mikrobiológiai vizsgálata. Mintavételi eljárás és a minta előkészítése

MSZ 21338-4:1980 Alkoholmentes üdítőital. Mikrobiológiai vizsgálati módszerek

MSZ 21391-1:1994 Gyorsfagyasztott élelmiszerek előfőzöttégének vizsgálata. A peroxidáz-aktivitásának kimutatása



A kép illusztráció / Picture is for illustration only
Fotó/Photo: Shutterstock

¹ Magyar Szabványügyi Testület (MSZT)

¹ Hungarian Standards Institution

Review of national standardization

The following European or International standards are published in Hungarian in 2017:

ICS 65.120 Animal feeding stuffs

MSZ EN 16160:2012 Animal feeding stuffs. Determination of Hydrocyanic acid by HPLC

MSZ EN 16877:2017 Animal feeding stuffs: Methods of sampling and analysis. Determination of T-2 and HT-2 toxins, Deoxynivalenol and Zearalenone, in feed materials and compound feed by LCMS

ICS 67.060 Cereals, pulses and derived products

MSZ EN ISO 16634-2:2016 Food products. Determination of the total nitrogen content by combustion according to the Dumas principle and calculation of the crude protein content. Part 2: Cereals, pulses and milled cereal products (ISO 16634- 2:2016)

MSZ EN ISO 6540:2010 Maize. Determination of moisture content (on milled grains and on whole grains) (ISO 6540:1980)

MSZ EN ISO 5529:2010 Wheat. Determination of the sedimentation index. Zeleny test (ISO 5529:2007)

The following Hungarian standards are commercially available at MSZT (Hungarian Standards Institution, H-1082 Budapest, Horváth Mihály tér 1., phone: +36 1 456 6893, fax: +36 1 456 6884, postal address: H-1450 Budapest 9., Pf. 24) or via website: www.mszt.hu/webaruhaz.

Published national standards from December, 2016 to February, 2017

ICS 07.100.20 Microbiology of water

MSZ EN ISO 14189:2017 Water quality. Enumeration of *Clostridium perfringens*. Method using membrane filtration (ISO 14189:2013)

07.100.30 Food microbiology

MSZ CEN/TR 16059:2016 Food analysis. Performance criteria for single laboratory validated methods of analysis for the determination of mycotoxins (published in Hungarian)

13.060 Water quality

MSZ EN ISO 5667-6:2017 Water quality. Sampling. Part 6: Guidance on sampling of rivers and streams (ISO 5667-6:2014)

MSZ EN ISO 5667-14:2017 Water quality. Sampling. Part 14: Guidance on quality assurance and quality control of environmental water sampling and handling (ISO 5667-14:2014)

MSZ EN ISO 7027-1:2016 Water quality. Determination of turbidity. Part 1: Quantitative methods (ISO 7027-1:2016) (published in Hungarian) which has withdrawn the MSZ EN ISO 7027-1:2000

MSZ EN ISO 17294-2:2017 Water quality. Application of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). Part 2: Determination of selected elements including uranium isotopes (ISO 17294-2:2016) which has withdrawn the MSZ EN ISO 17294-2:2005

65.120 Animal feeding stuffs

MSZ EN 16877:2017 Animal feeding stuffs: Methods of sampling and analysis. Determination of T-2 and HT-2 toxins, Deoxynivalenol and Zearalenone, in feed materials and compound feed by LCMS

ICS 67 Food technology

67.200.10 Animal and vegetable fats and oils

MSZ EN 14112:2016 Fat and oil derivatives. Fatty Acid Methyl Esters (FAME). Determination of oxidation stability (accelerated oxidation test) which has withdrawn the MSZ EN ISO 14112:2004

71.100.60 Essential oils

MSZ ISO 8896:2017 Essential oil of caraway (*Carum carvi* L.) (published in Hungarian)

MSZ ISO 13171:2017 Essential oil of oregano [*Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) letsw] (published in Hungarian)

Corrected national standards from December, 2016 to February, 2017

MSZ 9600:2016 Guidelines for sensory analysis of spirit drinks

MSZ EN ISO 520:2011 Cereals and pulses. Determination of the mass of 1000 grains (ISO 520:2010)

Withdrawn national standards from December, 2016 to February, 2017

MSZ 788:2003 Sugar. Microbiological test

MSZ 3640-1:1988 Microbiological examination of meat and meat products. Terminology

MSZ 3640-5:1981 Microbiological examination of meat and meat products. Sampling. General guidelines

MSZ 6367-17:1989 Edible, fodder and industrial seeds and husked products. Quality tests. Applying the near infrared reflectance spectroscopy

MSZ 6369-6:2013 Wheatflour test methods. Part 6:

Physical characteristics of doughs. Determination of Hungarian Quality Number and evaluation

MSZ 6891:1989 Enumeration of living aerobic micro-organisms in bull sperm

MSZ 8761-2:1986 Beer. Samplings, lot evaluation

MSZ 8761-8:1989 Beer. Microbiological test methods

MSZ 8800:1983 High fructose corn (maize) syrup. Microbiological test

MSZ 15479:1980 Margarine. Microbiological test methods

MSZ 20499-2:1985 Konzervált gyümölcspulpok. Mintavételi eljárás

MSZ 20501-4:1982 Test methods for bakery products. Microbiological tests

MSZ 20633-2:1985 Dragee. Sampling, test methods and quality assessment

MSZ 20986:1985 Wafers. Sampling, test methods and quality assessment

MSZ 21360-2:1984 Microbiological examination of quick-frozen food. Sampling, preparation of sample

MSZ 21338-4:1980 Non alcoholic beverages. Microbiological test methods

MSZ 21391-1:1994 Determination of quick frozen products. Determination of enzym-activity of blanched vegetables. Qualitative methods

For further information please contact Ms Csilla Kurucz, sector manager on food and agriculture, e-mail: cs.kurucz@mszt.hu

MINŐSÉG MEGFIZETHETŐSÉG EGYSZERŰSÉG SZERVIZELHETŐSÉG

SZOMATIKUS SEJTSZÁM
ÉS BAKTÉRIUM
SZÁMOLÁS
BENTLEY MŰSZEREK

BELTARTALMI VIZSGÁLATOK
zsírtartalom, fehérje, laktóz,
szárazanyag, kazein, fagyáspont
BENTLEY MŰSZEREK

SZERMARADVÁNY
ÉS TOXIN MEGHATÁROZÁS
UNISENSOR GYORSTESZTEK
RANDOX TESZTEK

ÁLLATDIAGNOSZTIKA,
DNA TESZTEK
masztitisz, karbamid meghatározás
DNA DIAGNOSTIC TESZTEK
BENTLEY MŰSZEREK

HIGIÉNYIA
ÉS ALLERGÉN VIZSGÁLATOK
HYGIENA GYORSTESZTEK



Bentley Magyarország Kft.
8000 Székesfehérvár, Kálmos utca 2.
hungary@bentleyinstruments.com
Tel.: +36 22 414 100

www.bentleyhungary.hu



Mikro, UV, hőség: mi történik az élelmiszer-csomagolással?

Fiatal kutatók arra a kérdésre keresték a választ, hogy mi történhet azokkal a műanyag csomagolóanyagokkal, amelyeket a szállítás, illetve a tárolás során különböző hatások (UV-fény, mikrohullám, magas hőmérséklet) érnek. Kioldódhatnak-e belőlük az élelmiszerekbe olyan anyagok, amelyek ártalmasak az egészségre? A válasz – egyelőre – megnagyító.



A WESSLING Nonprofit Kft. által az Eötvös Loránd Tudományegyetemmel közösen működtetett Elválasztástechnikai Kutató és Oktató Laboratórium (EKOL) kutatói a 2016. november 9-én Kecskeméten megrendezett Elválasztástudományi Vándorgyűlésen négy poszterrel és egy előadással jelentek meg. Gyergyószegi Zsófia díjnyertes poszterének a témája az élelmiszerekkel érintkező műanyagokból kioldható degradációs termékek vizsgálata volt.

A kromatográfiás módszerrel elvégzett mérések után az a következtetés vonható le, hogy a vizsgált műanyagtermékek biztonságosságát nem érintik kedvezőtlenül a kutatók által vizsgált hatások. Jó hír tehát, hogy a műanyagok a vizsgált behatások után is épp annyira megfelelnek a 10/2011/EK rendeletnek mint előtte.

Az élelmiszerekkel kapcsolatba kerülő műanyag-csomagolások kioldódása ugyan egy rendkívül fontos kutatási terület marad a jövőben is, de egyelőre úgy tűnik, amiatt nem kell aggódnunk, hogy a szállítás és a tárolás során keletkezett esetleges negatív hatások okán bármilyen káros anyag kerülne a szervezetünkbe.

A műanyagcsomagolások jól bírják a strapát – adta hírül a Laboratorium.hu tájékoztatása alapján a National Geographic magyarországi honlapja is (<http://www.ng.hu/Tudomany/2016/12/17/A-muanyag-csomagolasok-jol-birjak-strapat>)

Egyre javul a pálinka minősége

Óriásit javult a pálinka minősége – derült ki többek között a szakma és a döntéshozók részvételével december elején szervezett konferencián. Baján, a Városháza dísztermében megtartott ta-

nácskozáson szakemberek tartottak előadást az elmúlt évek pozitív tapasztalatairól.

Zsigó Róbert, az élelmiszerlánc-biztonságért felelős államtitkár szerint az egyik legfőbb cél, hogy az élelmiszer-biztonsági szempontból megbízható, a címkének megfelelő ital legyen a pohárban. A pálinka minőségi ellenőrzése, kulturált fogyasztása egy egész közösséget tart össze.

A NÉBIH mérései alapján a pálinka minősége óriásit fejlődött az utóbbi időben, és ez a fejlődés azóta is tart – mondta Mészáros Kálmán, a NÉBIH Borászati és Alkoholos Italok Igazgatóságának vezetője. A 2014-ben és 2015-ben végzett több mint 300 mérésnek csak 6%-a nem volt nem megfelelő.

A konferencián felszólalt még Nagygyörgy László, az élelmiszervizsgálókkal is foglalkozó független, akkreditált laboratórium projektmenedzsere, aki a WESSLING Hungary Kft. minőségi pálinka érdekében végrehajtott fejlesztéseiről beszélt. A saját erőforrásból és pályázatok útján az elmúlt nyolc évben lebonyolított projektek (PALINKAH, KMR-12 projekt) során a laboratórium több ezer pálinkamintát vizsgált meg. Ez alapján létrehoztak egy tekintélyes adatbázist, megvizsgálták az eredetvédett pálinkák nyomon követhetőségének lehetőségeit, létrehozták a Pálinkavédjegy-rendszert.



A konferencia után a jelenlévők átvonultak a gyönyörű bajai főtér másik oldalára, ugyanis itt nyitották meg a Francovilla pálinkaszalonját, ahol a hungarikum értékesítése mellett a szakemberek ismereteiket, tapasztalataikat is megoszthatják az érdeklődőkkel.

Allergének az ételekben

Allergiát és intoleranciát okozó anyagok a vendéglátásban címmel szervezett konferenciát november 18-án a Budapesti Gazdasági Egyetem vendéglátás tanszéke. A rendezvényen többek között szó esett a nulla határértékről, a fogyasztói igények változásáról, valamint a tápérték- és allergén-összetevők jelölésének fontosságáról is.



Dr. Szigeti Tamás János a WESSLING Hungary szakembere a „Hogyan mutathatók ki az allergiát és intoleranciát okozó anyagok az élelmiszerekben?” című előadásában elmondta, hogy az analitikai módszerek ma már egyre kisebb mennyiségű anyagokat is képesek kimutatni, azonban a közbeszédben oly gyakran emlegetett „nulla tolerancia”, azaz a nulla határérték semmilyen nemkívánatos szennyezőanyag vizsgálatánál nem értelmezhető.

Az allergéneknél is fontos hangsúlyozni, hogy „mentes anyag” nem létezik – mondta Szigeti Tamás János. A nagyobb molekulák, fehérjék vizsgálata az ELISA-teszttel zajlik, amelynek nagy a mérési bizonytalansága.

A vendéglátásban egész Európa-szerte óriási az érdeklődés az allergénmentes élelmiszerek iránt – mondta Dr. Niklai Ákos, a Magyar Szállodák és Éttermek Szövetségének elnöke. Eppen ezért lehet előre mutató módszer a MALDI-TOF technika, amelyet – többek között az allergén összetevők pontosabb vizsgálatára – a WESSLING laboratóriumban mostanában véglegesítenek.

Schreiberné Molnár Erzsébet, OGYÉI-OÉTI Főigazgatóságáról az élelmiszerek tápértékének, illetve az allergén összetevők jelölési kötelezettségéről beszélt. Ennek kapcsán Zoltai Anna (NÉBIH, Vendéglátás és Étkeztetés Felügyeleti Osztály vezetője) pedig elmondta, hogy nem csak a fogyasztói igények változása, hanem az új kockázatok megjelenése (allergia, információs kockázat) is indokoltá tette az új szabályozást. Hangsúlyozta, hogy a felelősség közös: az állam, a vállalkozások és a fogyasztók egyaránt felelősek az élelmiszerek biztonságáért.

A Laboratorium.hu és a Laborkaland hírei



A Laboratorium.hu közérdekű, tudományos és fogyasztóvédelmi honlap Konyhakémia rovatában azt javasolja, hogy az élelmiszer-pazarlás megállítását kezdjük rögtön a hűtőszekrényénél. A <http://laborato->

[rium.hu/elelmiszer-pazarlas](http://laboratorium.hu/elelmiszer-pazarlas) linken elérhető cikkben egy átlagos városi lakosnak adnak hasznos tanácsokat annak érdekében, hogy csökkenteni tudja az ételhulladék mennyiségét.

Miért veszélyesek a cukros üdítők, és mi a helyzet az energiákkal? Hol készítették először cukrot, és mikor épült fel az első cukorgyár? A Laboratorium.hu kis cukorhatározójából kiderül az is, hogyan képes ez a vegyület ennyi energia tárolására, és hogy mi is adja az „édes só” ízét. (<http://laboratorium.hu/cukorveszely>)

Az antioxidánsok szerepüket tekintve igen közel állnak a tartósítószerhez, hiszen adagolásukkal a gyártók az élelmiszerek romlását akadályozzák meg, és ezáltal növelik az eltarthatóságukat. Felhasználásuk igen széleskörű az egész élelmiszeripar területén, de a saját konyhánkban is előszeretettel használjuk az antioxidánsokat, még ha ezt nem is mindig tudjuk. (<http://laboratorium.hu/antioxidansok>)

Faraday korában folytatódik a Laborkaland online kémiaaverseny. Az internetes vetélkedő két emblematikus figurája: Gabi és kutyája, Szimat utaznak a térben és az időben, hogy meg ismerkedhessenek a világ nagy tudósaival. Az élelmiszer-biztonságra is fókuszáló online kémiaaverseny finálját május 4-én tartják. További részletek a www.laborkaland.hu honlapon.

A NÉBIH hírei



A tudomány körülvesz a Csodák Palotájában

Felmérések szerint az Európai Unióban évente csaknem összesen 88 millió tonna élelmiszert dobunk ki, fejenként 173 kilogrammot. A Nemzeti Agrárgazdasági Kamara (NAK) egységes uniós lépéseket sürget, a NÉBIH pedig akár 10 százalékkal szeretné csökkenteni a háztartások élelmiszer-pazarlását három éven belül.

Az Európai Parlament (EP) környezetvédelmi, közegészségügyi és élelmiszer-biztonsági bizottsága hamarosan fontos indítványt terjeszthet a szervezet elé. Az élelmiszer-hulladékok mennyiségét 2030-ig a felével csökkenteni kívánó jelentéstervezet előkészítésében a NAK és az európai agrárgazdasági konföderáció (COPA-COGECA) is részt vett.

A probléma nem csak az élelmiszer- és ételmaradékok pazarlását foglalja magában, hanem olyan más, értékes erőforrások, mint a víz, a talaj, munkaerők, az

energia és egyéb korlátozott erőforrásokét is. Az MTI korábbi információja szerint Magyarországon évente mintegy 1,8 millió tonna élelmiszerhulladék keletkezik, ennek hozzávetőleg egynegyede a háztartásokban.

Az élelmiszerpazarlás és az erdőtűz megelőzés fontosságáról is szól a Csodák Palotájában tegnap nyílt időszaki kiállítás. A nyolc szakmai partner, köztük a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal (NÉBIH), közreműködésével megvalósított tárlat a körülöttünk lévő világ tudományos kihívásaira, elsősorban a természet- és környezetvédelem fő témáira fókuszál. „A tudomány körülvesz” címet viselő interaktív kiállítás augusztus végéig látogatható.

A Csodák Palotája a „Négy évszak tudománya” tematikus kiállítás tavalyi sikerét követően döntött az újabb időszaki tárlat megnyitásáról. Az évszakok fizikai, kémiai, biológiai és technológiai kapcsolódásai után ezúttal hétköznapi életünk csodáira, a körülöttünk lévő világ tudományos kihívásaira fókuszálnak a bemutatott táblók, interaktív játékok.

„A 20. születésnapunkat azzal ünnepeltük, hogy állandósítottuk a változást a Csodák Palotájában: a már jól ismert játékeret folyamatosan fejlesztjük, új kiállításokkal és tárlatokkal gazdagítjuk, hogy a látogatók játszva kerülhessen közel a tudományokhoz.” – mondta el nyitóbeszédében Mizda Katalin, a Csodák Palotája ügyvezető igazgatója.

A nyolc szakmai szervezet együttműködésével létrejött kiállítás vizeink, állatvilágunk és az időjárás-változás aktuális kérdései mellett a NÉBIH szakterületeit érintő témakörökkel, az élelmiszerpazarlással, az erdőtűzekkel és a talajvédelemmel is foglalkozik.



„A tárlat megszervezésével az volt a célunk, hogy láthatóvá tegyük a környezetünk adta kihívásokat, felhívjuk a figyelmet hétköznapi életünk csodáira, szembesüljünk saját felelősségünkkel” – fogalmazott dr. Oravecz Márton, a NÉBIH elnöke megnyitó beszédében.

Oravecz Márton elmondta, hogy a felmérések szerint a kenyérféléknek 24, a készételeknek 18, a tejtermékeknek pedig a 17 százalékát dobjuk ki. Zsigó Róbert, a Földművelésügyi Minisztérium (FM) élelmiszerlánc-felügyeletért felelős államtitkára még tavaly év végén közölte, hogy az uniós becslések szerint Magyarországon 1,8 millió tonna élelmiszer-hulladék keletkezik évente, ezeknek több, mint 20 százaléka, mintegy 400 000 tonna a háztartásokban. Egy magyar kutatás arra hívja fel a figyelmet, hogy személyenként évente közel 46 kilogramm feleslegesé vált élelmiszert dobunk a szemétkébe, ennek visszaszorításával 100 milliárd forint értékű gazdasági kár és jelentős mértékű környezetterhelés lenne megelőzhető.



A NÉBIH – kampányának segítségével – 2020-ig 8-10 százalékkal szeretné csökkenteni a háztartások élelmiszer-pazarlását.

Az informatív anyagok, kiadványok, táblók mellett számos interaktív elem is gazdagítja a kiállítást, hogy a gyerekek – de akár a játékos kedvű felnőttek is – gyakorlati tapasztalataik révén sajátíthassák el a legfontosabb tudnivalókat. Tesztelhetik például, hogy tudják-e, az egyes anyagok (üveg, fém tárgyak, cellulóz) mennyi idő alatt bomlanak le miután kidobtuk őket. A Maradék nélkül program „pazarlás-piramisának” segítségével megismerhetik az élelmiszerpazarlásban leginkább érintett termékeket. Emellett a NÉBIH erdőtűz megelőzéséről szóló Firelife-kalendárium legérdekesebb elemei is színesíteni a tárlatot, mint például a fából készült óriás kirakó, a „célbadozható” locsolófal, a játékos erdőtűz-megelőzési feladatlapok, valamint a saját kezűleg összeállítható tűzrakó hely.

„A tudomány körülvesz” kiállítás augusztus végéig látogatható.

Új almafajta jelölteket mutatott be a NÉBIH

15 új, hazai ültetvényekből származó, rezisztens almafajtát ismerhettek meg szakértők és almakedvelők a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal (NÉBIH) januári alma fajtabemutatóján, Budapesten. A rendezvényt megnyitó szakmai kerekasztal beszélgetésen az ágazat képviselői osztották meg tapasztalataikat a rezisztens almafajták jelentőségéről és lehetőségeiről, majd „laikus” almakedvelőkkel együtt érzékszervi bírálaton értékelték az új fajtajelölteket.

Az alma az a különleges gyümölcsünk, amelyben a magas táplálkozás-élettani értékek együtt jelennek meg a kiemelkedő élvezeti értékekkel. Az alma fajtaújítások fogyasztási és élvezeti értékéről érzékszervi bírálatok során győződik meg minden évben a NÉBIH. Ezúttal a hatóság 15, a NÉBIH fajtakísérleti állomásairól és hazai ültetvényekből származó rezisztens almafajtát mutatott be.

A hazai almatermesztés rendkívül gazdag fajtakinálattal támaszkodhat. Ebben jelentős szerep jut az ellenálló, úgynevezett rezisztens almafajták termesztésének, ez ma világszerte a fajta-előállítás leginnovatívabb irányzata. Jelentőségük, hogy csökkentett vegyszerhasználatot tesznek lehetővé, ökológiai- és bio termesztésre különösen alkalmasak, ezáltal – a környezetet kevésbé terhelő technológiák bevezetése mellett – még egészségesebb gyümölcs termelését teszik lehetővé. A rezisztens almafajták felhasználása igen változatos: élelmiszeripari alapanyagként többek között bébiétel és gyümölcslé készül belőlük, de természetnek friss fogyasztásra alkalmas fajtákat is.

A kerekasztal-beszélgetésen az ágazat valamennyi érintettje, nemesítők, szaporítóanyag-előállítók és -forgalmazók, termelők, érdekképviseleti szervezetek és fogyasztók is részt vettek. Szóba került többek között a rezisztens alma szektor jelentősége és a benne rejlő lehetőségek, a piaci igények, de az is, hogy a lakosság körében a fajtaismeretet fejleszteni kell.

A szakmai bírálók és a „laikus” almakedvelők érzékszervi bírálaton értékelték a bemutatott 15 új rezisztens almafajta jelölteket. A bírálók pontozták többek között a gyümölcsök színét, alakját, húsállományát, illatát és ízét. A rezisztens almafajta-újítások fogyasztási értékét jól mutatja, hogy valamennyi bemutatott fajtajelölt, minden vizsgált tulajdonságra közepesnél jobb átlagértéket ért el a standard fajtákhoz viszonyítva. Az összesítés alapján a Fujion, az Isaaq, a Luna, a Smeralda, az Orion, a Red Topaz és a fajtanévvel egyelőre még nem rendelkező MR-17 fajtajelölt szerepelt a legjobban.



A fajtajelöltekre váró további vizsgálatok várhatóan jövőre zárulnak le. Pozitív végeredmény esetén bekerülnek a Nemzeti Fajtajegyzékbe. Ezáltal az Európai Közösség teljes területén forgalmazhatóak, szaporíthatóak és telepíthetőek lesznek.

Minőségi hibákat tárt fel a gyorsfagyasztott hasáburgonyák terméktesztje

A Szupermenta termékteszt sorozat folytatásaként ezúttal 16 gyorsfagyasztott hasáburgonya komplex vizsgálatát végezte el a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal (NÉBIH). A hatóság la-

boratóriumaiban a termékeket élelmiszer-biztonsági és minőségi paraméterek alapján egyaránt vizsgálták. Jelölési hiba minden termékénél akadt, három sültburgonya forgalmazójával szemben pedig – minőségi problémák miatt – élelmiszer-ellenőrzési bírságot szab ki a hatóság.



Az előkezelt és fagyasztott sültburgonyák széles kínálatából ezúttal 16 gyorsfagyasztott, elősütött, ízesítés nélküli hasáburgonyát vizsgált a hatóság. Érdekes, hogy valamennyi vizsgált terméket külföldön állították elő.

A NÉBIH laboratóriumaiban szűrőpróbaszerűen végeztek méréseket ólom és kadmium szennyezőanyagra, illetve növényvédőszer-maradéokra. Megnyugtató, hogy minden minta megfelelt a határértéknek vagy egyáltalán nem tartalmazott kimutatható mennyiséget ezekből az anyagokból.

A zsírsavösszetétel vizsgálatával ellenőrizték a szakemberek, hogy a termékekben valóban a jelölésen szereplő napraforgóolaj vagy pálmajolaj van-e. E téren minden burgonyát rendben találtak.

A vizsgált termékeket „gyorsfagyasztott hasáburgonya” elnevezéssel forgalmazzák, így minőség szempontjából meg kell felelniük a Magyar Élelmiszerkönyv előírásainak is, például az ún. széledarab-tartalomra és foltos hasáb mennyiségére vonatkozóan. A széledarabra vonatkozóan folyamatban van a Magyar Élelmiszerkönyv módosítása, így azok mennyiségét nem vettük figyelembe az értékelésnél. Fontos tudni, hogy ezek az értékek azt is meghatározzák, mely minőségi osztályba sorolható egy termék. Kilenc hasáburgonya csomagolásán nem tüntették fel a minőségi osztályt, de ezek közül nyolc az első osztálynak felelt meg. Három termékénél a nagy mennyiségű foltos hasáb miatt minőségi hibát állapítottak meg. Egy forgalmazó alacsonyabb, míg kettő magasabb osztályba sorolta termékét.

A jelölés vizsgálatokor minden hasáburgonyánál akadt jelölési hiba. Volt olyan termék például, amely csomagolásának elülső oldalán 1 kg nettó tömeget jelöltek, azonban a hátoldalon már 2,5 kg szerepelt. Hiányságnak számított az is, ha nem volt elkészítési útmutató. A termékek sötét tartalma azonban minden esetben összhangban volt a csomagoláson szereplő értékekkel.

A jelölési hiányosságok mellett megállapított minőségi hiba miatt 3 termék forgalmazójával szemben összesen kb. 500 ezer Ft élelmiszer-ellenőrzési bírságot szabnak ki a NÉBIH szakemberei. A többi 13 termék esetében a jelölési hibák miatt figyelmeztetésben részesülnek az élelmiszer-vállalkozók.

A termékeket ezúttal is pontozták laikus és szakértő kóstolók. A pontozás összesített értékei alapján első lett a McCain Original hasábburgonyja. Második legjobbnak a Spar sajátmárkás termékét értékelték, míg harmadik helyen szintén egy sajátmárkás termék, a Metro Horeca Select French Fries zárt.

További információk és a részletes vizsgálati eredmények elérhetők a NÉBIH Szupermenta termékteszt oldalán:

<http://szupermenta.hu/tanulasagos-veget-ert-a-gyors-fagyasztott-hasabburgonyak-tesztje/>

Microwave, UV, heat: what happens to food packaging?

Young researchers were seeking the answer to the question of what happens to plastic packaging materials that are exposed to different effects (UV light, microwaves, high temperature) during transportation or storage. Can harmful substances leach into foods? The answer – for now – is reassuring.

Researchers of the Joint Research and Training Laboratory on Separation (EKOL), operated by WESSLING Nonprofit Kft. and ELTE together were present at the Separation Science Meeting held on November 9, 2016, in Kecskemét, with four posters and a lecture. The topic of Zsófia Gyergyószegi's award-winning poster was the analysis of degradation products that can leach from food contact plastic materials.

After measurements performed using chromatographic methods, the conclusion could be drawn that the effects investigated by the researchers did not influence adversely the safety of the plastic materials tested. So the good news is that the plastics comply with Regulation 10/2011/EC after the exposure as well as they did before them.

Although the migration testing of food contact plastic packaging materials will still remain a very important area of research in the future, but for now it seems that we do not have to worry about harmful substances entering our bodies due to negative effects suffered during transportation or storage. Plastic containers are quite resilient – this was also reported by the Hungarian website of National Geographic, based on information from Laboratorium.hu (<http://www.ng.hu/Tudomany/2016/12/17/A-muan-yag-csomagolasok-jol-birjak-strapat>)

Improving palinka quality

There has been a vast improvement in the quality of palinka – this was revealed, among other things, at the conference held at the beginning of December with the participation of the profession and decision-makers. At the meeting held in the assembly hall of the City Hall in Baja, presentations were given by the experts about the positive experiences of recent years.

According to Róbert Zsigó, state secretary responsible for food chain safety, one of the main objectives is to ensure that the drink in the glass can be trusted, from a food safety point of view, and that it corresponds to the label on the bottle. An entire community is held together by the quality control and civilized consumption of palinka.

Based on the measurements of NÉBIH, there has been a vast improvement in palinka quality in recent times, and this improvement is still ongoing – said Kálmán Mészáros, head of NÉBIH's Directorate of Winery and Alcoholic Beverages. There were more than 300 analyses carried out in 2014 and 2015, and the results of only 6% of them were unsatisfactory.

Also spoke at the conference László Nagygyörgy, project manager of the independent accredited laboratory, also performing food analyses, who talked about the developments of WESSLING Hungary Kft., carried out to improve palinka quality. In the projects completed over the last eight years (PALINKAH, KMR-12 project), relying on their own resources and grants, several thousands of palinka samples were analyzed. Based on this, a substantial database was created, the possibilities for tracing palinkas of protected origin were investigated, and the Palinka trademark system was established.

After the conference, those present proceeded to the other side of the beautiful main square of Baja, where the palinka salon of Francovilla was opened where, in addition to selling this Hungaricum, experts can share their knowledge and experience with interested parties.

Allergens in foods

A conference titled Substances in catering causing allergies and intolerance was organized on November 18, by the Institute of Tourism and Catering of the Budapest Business School. At the event were discussed, among other things, the zero limit value, changes in consumer demand, and also the importance of marking the nutritional value and allergenic ingredients on the labels.

In his presentation titled How can substances causing allergies and intolerance be detected in foods?, Dr. Tamás János Szigeti, expert of WESSLING Hungary, said that today's analytical methods are capable of detecting smaller and smaller amounts of the different substances, however, the common talk phrase "zero tolerance", i.e., the zero limit value is not applicable to the analysis of any undesirable contaminants.

It is important to emphasize in the case of allergens as well that there is no such thing as an "allergen free substance" – said Tamás János Szigeti. The analysis of larger molecules and proteins is carried out using ELISA tests that possess a great measurement uncertainty.

There is a huge interest in allergen-free foods in the catering industry all over Europe – said Dr. Ákos Niklai, president of the Hungarian Hotel & Restaurant Association. This is why the MALDI-TOF technique, a method now being finalized in the WESSLING laboratory as a more accurate method for analyzing allergenic ingredients, among other things, could be a step forward.

Erzsébet Schreiberne Molnár of OGYÉI-OÉTI (the National Institute for Food and Nutrition Science of the National Institute of Pharmacy and Nutrition) spoke about the labeling obligations regarding the nutritional value and the allergenic ingredients of foods. In connection with this, Anna Zoltai (NÉBIH, head of the Catering Supervision Department) said that the new regulation was justified not only by a change in consumer demand, but also by the emergence of new risks (allergies, information risks). She emphasized that there is a common responsibility: the state, businesses and consumers are all responsible for the safety of foods.

Laboratorium.hu and Lab adventure news

In its Kitchen chemistry section, the public interest, scientific and consumer protection website Laboratorium.hu recommends that we begin the stopping of food waste at the refrigerator. In the article found at <http://laboratorium.hu/elelmiszer-pazarlas>, useful advice is given to an average urban resident in order for them to be able to reduce the amount of food waste.

Why are sugary soft drinks dangerous and what is the situation with energy drinks? Where was sugar first made and when was the first sugar factory built? The little sugar encyclopedia of Laboratorium.hu also reveals how this compound is capable of storing so much energy, and what provides the flavor of „sweet salt”. (<http://laboratorium.hu/cukorveszely>)

Considering their role, antioxidants are very close to preservatives, since manufacturers add them in order to prevent the spoilage of foods, thus increasing their shelf lives. Their use is very widespread throughout the food industry, but we also like to use them in our own kitchens, even if we don't always know it. (<http://laboratorium.hu/antioxidansok>)

The Lab adventure online chemistry competition continues in the era of Faraday. Gabi and his dog, Snoopy, the emblematic figures of the online competition travel through space and time to meet the great scientists of the world. The finale of the online chemistry competition focusing on food safety will be held on May 4.

NÉBIH news

Science is all around in the Center of Scientific Wonders

Surveys show that each year almost 88 million tons of food is thrown away in the European Union, which is equivalent to 173 kilograms per person. The Hungarian Chamber of Agriculture (NAK) is calling for uniform action by the EU, while NÉBIH would like to reduce the food waste of households by up to 10 percent within three years.

An important motion may soon be submitted to the European Parliament (EP) by its environmental, public health and food safety committee. Both NAK and the COPA-COGECA (the Committee of Professional Agricultural Organizations and the General Committee for Agricultural Cooperation in the European Union) participated in the preparation of the draft report, intending to reduce food waste by half by 2030.

The problem includes not only the wasting of foods and leftovers, but also of other valuable resources, such as water, soil, work hours and other limited resources. According to the earlier information of MTI, roughly 1.8 million tons of foods waste is generated annually in Hungary, and approximately one quarter of this comes from households.

The temporary exhibition, which opened yesterday at the Center of Scientific Wonders, is about the importance of food waste and forest fire prevention, among other things. The exhibition, realized with the cooperation of eight professional partners, including the National Food Chain Safety Office (NÉBIH), focuses on the scientific challenges of the world around us, mainly on the major topics of nature and environmental protection. The interactive exhibition titled "Science is all around" will be open until the end of August.

Following last year's success of the "Science of four seasons" thematic exhibition, the Center of Scientific Wonders decided to open another temporary exhibition. After the connections of the seasons to physics, chemistry, biology and technology, this time the tableaux presented and the interactive games focus on the wonders of our everyday life, and the scientific challenges of the world around us.

„We celebrated our 20th birthday by making change a constant thing at the Center of Scientific Wonders: the already well-known play area is constantly developed, enriched with new exhibitions and shows, so that visitors can get close to science while playing” - said in her opening speech Katalin Mizda Katalin, managing director of the Center of Scientific Wonders.

The exhibition, realized with the cooperation of eight professional organizations, in addition to the current issues of our waters, fauna and climate change, deals with topics related to the areas of expertise of NÉBIH, such as food waste, forest fires and soil protection.

„With the organization of the exhibition, our objective was to make the challenges posed by our environment visible, to draw attention to the wonders of our everyday life, and to face our own responsibilities” – said in his opening speech dr. Márton Oravecz, president of NÉBIH.

Márton Oravecz also said that, according to surveys, 24 percent of bread, 18 percent of prepared foods and 17 percent of dairy products are thrown away. Róbert Zsigó, state secretary of the Ministry of Agriculture (FM) responsible for food chain supervision said at the end of last year that, according to EU estimates, 1.8 million tons of food waste is generated annually in Hungary, more than 20 percent of it, roughly 400 000 tons in households. A Hungarian research draws attention to the fact that nearly 46 kilograms of excess food per person is thrown in the garbage each year, and by reducing this amount, economic damages in the amount of 100 billion HUF and a significant environmental pollution could be prevented.

With the help of its campaign, NÉBIH would like to reduce household food waste by 8 to 10 percent by the year 2020.

In addition to informative materials, publications and tableaux, there are several interactive features that enrich the exhibition, so that kids – but also playful adults – can acquire the most important information through practical experience. For example, they can test whether they know how fast different materials (glass, metal objects, cellulose) decompose after being thrown in the garbage. With the help of the "waste pyramid" of the program titled With no leftover, they can learn about the prod-

ucts most involved in food waste. In addition, the exhibition is made more colorful by the most interesting elements of the Firelife adventure course of NÉBIH about forest fire prevention, such as the giant jigsaw puzzle made of wood, the wall that can be used for fire hose target practice, playful forest fire prevention test sheets, and the fireplace that can be assembled manually.

The exhibition titled "Science is all around" will be open until the end of August.

New apple varieties introduced by NÉBIH

15 new, resistant apple varieties from domestic orchards were presented to experts and apple-lovers at the apple variety introduction of the National Food Chain Safety Office (NÉBIH) in Budapest. At the professional roundtable discussion opening the event, representatives of the sector shared their experience about the significance and possibilities of resistant apple varieties, and then sensory testing of the new variety candidates was carried out by the experts and "lay" apple-lovers.

The apple is our unique fruit, in which high nutrition physiological values are present together with outstanding organoleptic values. Consumption and organoleptic values of new apple varieties are checked by NÉBIH each year in sensory tests. This time, 15 resistant apple varieties, coming from the experimental stations of NÉBIH and from domestic orchards, were introduced by the authority.

Domestic apple production can rely on a very wide range of apple varieties. A significant role is played by the growing of resistant apple varieties, which is the most innovative trend in variety production in the world right now. Their significance lies in the fact that they permit a reduced use of chemicals, they are eminently suitable for ecological and bio production, therefore, they make production of an even healthier fruit possible, while using more environmentally friendly technologies. The use of resistant apple varieties is very diverse: as a food industry raw material, baby food and fruit juice is made from them, among other things, but varieties suitable for fresh consumption are also grown.

At the Wednesday roundtable discussion, all of the stakeholders of the sector participated, breeders, propagating material producers and distributors, growers, advocacy organizations and consumers as well. The significance of the resistant apple sector and its possibilities were mentioned, among other things, market demand, and also the fact that the awareness of the different varieties should be increased among the population.

The newly introduced 15 resistant apple variety candidates then underwent a sensory evaluation by professional judges and "lay" apple-lovers. The color, shape, meat, smell and taste of the fruits were scored by the judges, among other things. The consumption value of the resistant apple variety novelties is indicated by the fact that all of the variety candidates introduced received better than average values for all of the characteristics tested, compared to standard varieties. Based on the aggregate scores, the variety candidates Fujion, Isaaq, Luna, Smeralda, Orion, Red Topaz and the MR-17, with now variety name yet, performed best.

Further tests are awaiting the variety candidates, which are expected to conclude next year. In case of positive final results, they will be entered into the National List of Varieties. This way, their distribution, propagation and planting will be allowed throughout the European Community.

Quality defects uncovered by the product test of frozen french fries

In the next installation of the Supermint product test series, the complex analysis of 16 frozen french fries was performed by the National Food Chain Safety Office (NÉBIH) this time. In the laboratories of the authority, products were tested both in terms of food safety and quality parameters. There were labeling errors in the case of each product and, for quality problems, the distributors of three french fries will be fined by the authority.

This time, of the wide range of pre-processed and frozen french fries, 16 frozen, pre-fried, unflavored potatoes were tested by the authority. It is interesting to note that all of the products tested had been manufactured abroad.

Random measurements were carried out in the laboratories of NÉBIH for the contaminants lead and cadmium, as well as for pesticide residues. Reassuringly, all of the samples either complied with limit values or did not contain detectable amounts of these substances.

By testing the fatty acid composition, experts checked whether the products contained sunflower oil, as indicated on the label, or palm oil. In this respect, all of the fries were found to be in order.

The product investigated are marketed under the name "frozen french fries", therefore, in terms of quality, they must meet the requirements of the Hungarian Food Codex regarding, for example, the content of edge pieces or the amount of blotched pieces. As for edge pieces, modification of the Hungarian Food Codex is underway, so their amount was not taken into consideration during the evaluation. It is important to know that it is also determined by these values, into which quality grade a product is classified. Quality grades were not listed on the packaging of nine french fries, but eight of these corresponded to first grade. In the case of three products, a quality defect was identified because of a large amount of blotched pieces. One product was classified into a lower grade, while two of them into a higher one by their distributors.

When checking the labels, labeling errors were found in the case of all of the french fries. For example, there was a product, where the front side of the packaging indicated a net weight of 1 kg, but on the back side the weight was 2.5 kg. It was also considered a deficiency, if there were no cooking instructions. However, the salt content of the products was consistent with the value on the packaging in each case.

Distributors of three products are fined a total of ca. 500 000 HUF by the experts of NÉBIH for the labeling deficiencies and quality defects. In the case of the other 13 products, the food businesses receive a warning because of the labeling errors.

Once again, products were scored by laypeople and expert judges, and based on the aggregate scores, McCain's Original french fries finished first. Second best was Spar's private label product, while another private label product, the Metro Horeca Select French Fries finished third.

Further information and detailed test results are available at the NÉBIH Supermint product test site: <http://szupermenta.hu/tanulsagos-veget-ert-a-gyors-fagyasztott-hasaburgonyak-tesztje/>

EFSA

<https://www.efsa.europa.eu/en/news>

Fertőző fagyasztott kutyaeledel: az embereket is érintheti a veszély

Az amerikai Blue Ridge Beef vállalat 4 államban is visszahívja nyers, fagyasztott pulyka állateledelét, mivel vizsgálatok kimutatták, hogy *Listeria monocytogenes* baktériummal szennyezett. A visszahívást az USA Élelmiszerbiztonsági és Gyógyszerészeti Hivatala kezdeményezte a termékből történő mintavétel és bevizsgálás után.

A *Listeria monocytogenes* nem csak a termékből fogyasztott állatokat betegítheti meg, hanem azokat az embereket is érintheti a fertőzés, akik érintkeztek a termékkel, és nem mostak utána megfelelően kezét, vagy nem tisztították le megfelelően a pultot azokat az eszközöket, amelyekkel adagolták az eledelt.

Felhívták a vásárlók figyelmét arra, hogy aki

a közzétett címkével ellátott termékek valamelyikét megvásárolta, azonnal hagyja abba az állatoknak való adagolását, és vigye vissza a vásárlás helyére, vagy dobja ki.

A liszteriózis csak nagy számú baktériumot tartalmazó élelmiszerek fogyasztása, illetve az azokkal való érintkezés esetén alakul ki, tüneteinek megjelenése eltarthat akár 70 napig is. A tünetek közé tartozik a hányinger, hányás, hasmenés, a hasi görcsök és a láz. Különösen veszélyes a terhes nők, az idősek, a gyermekek és a legyengült immunrendszerű emberek esetében.

Meghatározták a B1 vitamin referenciaértékét

Az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság (EFSA) meghatározta a tiamin, azaz a B1 vitamin táplálkozási referenciaértékét, amelyet a tudományos tápanyagbevitel tanácsadásáról szóló tanulmá-

nyában ismertet.

A tiamin vízben oldódó vitamin, amely fontos szerepet játszik az egészséges idegrendszer és kardiovaszkuláris rendszer fenntartásában. Az EFSA diétás termékekkel, táplálkozással és allergiákkal foglalkozó tudományos testülete (NDA) megerősítette, hogy az ajánlott fogyasztói bevitel 0,1 mg/MegaJoule felhasznált energia, minden korcsoportnak 7 hónapos kor felett. A testület úgy véli, hogy új tudományos adatok hiányában az eredetileg 1993-ban az Élelmiszerügyi Tudományos Bizottság által meghatározott érték nem igényel változtatásokat.

Súlyos tiaminhiány okozza a beriberi nevű betegséget, amely az ember neurológiai és kardiovaszkuláris rendszerére van negatív hatással. Ennek tünetei a túlzott fáradtság, a feledékenység, a gyenge mozgáskoordináció és a fogyás. B1-vitamin források közé tartoznak a teljes kiőrlésű gabonák, a hüvelyesek, a vörös húsok, a hal, a magvak és a diófélék.

OpenFoodTox: az EFSA új információs eszköze

Az OpenFoodTox egy új EFSA adatbázis, amely azonnali hozzáférést és széleskörű információt biztosít több mint 1650 EFSA-tanulmány alapján az élelmiszerekben és takarmányokban található vegyi anyagokról. Az EFSA a mindenki számára nyílt és gyorsan kereshető adatbázissal fontos lépést tett az átláthatóság felé.

Az EFSA-tanulmányokról ugyan már eddig is a nyilvánosság rendelkezésére állt az összes információ, az OpenFoodTox segítségével azonban már nem kell egyesével végig böngészni az összes dokumentumot, hanem gyorsan és könnyen kereshetünk adatokat. Ez a rendszer hozzáférést biztosít azokhoz a legfontosabb toxikológiai információkhoz, amelyeket 2002 óta tett közvéleményre az EFSA.



Az adatbázis több, mint 4000 vegyi anyagról és a rájuk vonatkozó Európai Unió jogszabályokról, az EFSA által meghatározott, általuk generált kritikus hatásokról és esetenként az ajánlott napi bevitelről is információt nyújt. Mindemellett a növényvédőszerekben, az élelmiszer-adalékanyagokban, az aromákban és a tápanyagforrásokban, takarmány-adalékanyagokban fellelhető vegyi anyagokról is megtalálhatók adatok. Az OpenFoodTox adatbázisát évente frissítik.

Az eszközt elsősorban olyan tudósoknak és döntéshozóknak ajánlják, akiknek fontos, hogy hatékony kereséssel érjék el a kulcsfontosságú információkat a különböző vegyi anyagokról. Az adatbázis emellett hasznos lehet még civil csoportok, élelmiszeripari vállalkozók és a társadalom azon tagjai számára, akik szeretnék minél részletesebb betekintést nyerni az élelmiszerekben található vegyi anyagok biztonsági értékeléséről.

Food Safety News

<http://www.foodsafetynews.com/>

Európában növekszik a liszteriózis-fertőzés

Az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság (EFSA) és az Európai Betegségmegelőzési és Járványvédelmi Központ (ECDC) legújabb tanulmánya szerint 2008 óta egyre magasabb a megbetegedések száma, az érintettek nagy része pedig 64 évnél idősebb.

A liszteriózist a *Listeria monocytogenes* baktérium okozza, amely széles körben elterjedt a környezetben. Ezek a baktériumok alacsony hőmérsékleten is képesek szaporodni, ellenállnak a fagynak, és tolerálják a magas sókoncentrációt. Így képesek túlélni a feldolgozott, tartósított és hűtött kész ételekben, a feldolgozott húsokban és halakban és olyan tejtermékekben, mint például a lágy sajt, vaj és tej, különösen, ha nem pasztörözöttek.

A jelentés a szalmonellózis, a *Campylo-*

bacter-fertőzés és az élelmiszer-eredetű járványokkal kapcsolatban is tartalmaz adatokat Európai Unió szerte.



Az EU-ban 2015-ben mintegy 2200 embert érintett a liszteriózis, ebből 270 halálos kimenetelű megbetegedés volt, ilyen magas számot még sosem regisztráltak. A 64 év fölötti korosztályban előforduló esetek aránya is folyamatosan növekszik.

Mivel továbbra is növekvő tendenciát mutat a liszteriózis és egyéb élelmiszer-eredetű fertőzések száma, az ECDC a tagállamokkal együttműködve folyamatosan fokozza a felügyelet az élelmiszer és víz útján terjedő betegségekkel kapcsolatban.

Az EFSA adatai alapján a *Listeria monocytogenes* baktériumok száma ritkán haladja meg a jogi biztonsági határértékeket a készételekben, amelyek az élelmiszer-eredetű emberi fertőzések leggyakoribb forrásai.

EFSA

<https://www.efsa.europa.eu/en/news>

Frozen turkey dog food recalled for Listeria; people also at risk

Blue Ridge Beef is recalling its frozen, raw turkey pet food from retailers in four states because it poses a danger to people and their animals because of possible *Listeria monocytogenes* contamination. This recall was initiated with FDA inspection and sampling of the product, according to the company's recall notice.

"*Listeria* can affect animals eating the product and there is a risk to humans from handling contaminated pet products, especially if they have not thoroughly washed their hands after having contact with the products or any surface exposed to these products."

Consumers who have purchased the above lot of turkey for dogs are urged to stop feeding them and return products to the place of purchase for a full refund. Or dispose of them immediately.

It can take up to 70 days for symptoms of *Listeria* infection to develop after exposure. Symptoms include nausea, vomiting, diarrhea or bloody diarrhea, abdominal cramping and fever. It is particularly dangerous for pregnant women, the elderly, children and people with compromised immune systems.

Reference values vitamin B1

EFSA has set dietary reference values for thiamin (vitamin B1) as part of its review of scientific advice on nutrient intakes. Thiamin is a water-soluble vitamin which plays an important role in maintaining healthy nervous and cardiovascular systems.

The Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA) confirms a Population Reference Intake (PRI) of 0.1 mg per megajoule of energy requirements for all population groups older than 7 months. The Panel finds that in the absence of new scientific data, the value originally set in 1993 by the Scientific Committee for Food does not require changing.

Thiamin deficiency can cause beriberi, a condition affecting the neurological and cardiovascular systems, with symptoms such as extreme fatigue, forgetfulness, poor coordination and weight loss. Food sources of thiamin include whole grains, pulses, red meat, fish, seeds and nuts.

OpenFoodTox: EFSA's new tool for information

OpenFoodTox is the new EFSA database that provides instant access to a wealth of information from over 1,650 EFSA scien-

tific outputs about the toxicity of chemicals found in the food and feed chain. This is an important milestone in EFSA's efforts to increase transparency and open its data up for others to explore and re-use.

All the information in the database is already publicly available, but until now you would have to look it up in over 1,650 separate scientific opinions and conclusions. OpenFoodTox gives quick and easy access to the most important information from that huge body of work.

The database gives information on over 4,000 chemical substances, related EU legislation, the EFSA output identifying their critical effects and the safe levels set by EFSA scientific pan-

els, such as tolerable or acceptable daily intakes. And it's a living tool as the database will be updated on a yearly basis.

It's a click-of-a-mouse tool for scientists and decision-makers to search and access key toxicity information by substance. The database could also be useful to civil society groups, food operators and members of the general public who want to gain more detailed insights on the assessment of the safety of chemicals in food.

Food Safety News

<http://www.foodsafetynews.com/>

Europe experiencing an increasing trend of listeriosis

European experts have noted an increasing trend of listeriosis illnesses since 2008, except for a stabilization of infections from the pathogen from 2014 to 2015. Most infected people were over 64 years of age.

The findings are included in the most recent annual report by the European Food Safety Authority (EFSA) and European Center for Disease Prevention and Control (ECDC). The report on zoonotic diseases includes the latest data on trends for salmonellosis, campylobacteriosis and foodborne outbreaks in the European Union.

Listeriosis affected about 2,200 people in the EU in 2015, causing 270 deaths – the highest number ever reported in the EU.

The proportion of cases in the over-64 age group steadily increased.

"It is concerning that there continues to be an increasing trend of Listeria cases which mostly occur in the elderly population. ECDC is working together with Member States to enhance surveillance for food- and waterborne diseases, starting with Listeria.

Based on EFSA's data Listeria seldom exceeded the legal safety limits in ready-to-eat foods, the most common foodborne source of human infections.

nébih
termőföldtől
az asztalig

WESSLING
Életünk minősége



A Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal és a WESSLING Hungary Kft. a Hungalimentaria rendezvények hagyományát folytatva 11. alkalommal ismét megrendezi a

HUNGALIMENTARIA 2017

tudományos konferenciát és szakmai kiállítást.

Helyszín: Aquaworld Resort Budapest Hotel, 1044 Budapest, Íves út 16.

Időpont: 2017. április 26-27.

A Hungalimentaria konferenciák célja immár 21 éve alapvetően az, hogy az élelmiszerek és takarmányok vizsgálatát végző laboratóriumok munkatársai, a vizsgálati eredményeket hasznosító, döntéshozó szakemberek és minden érdeklődő számára közel hozza az analitikai kémia, a mikrobiológia és a molekuláris biológia tudományos és gyakorlati aspektusait.

A rendezvényen az alábbi szekciókat szervezzük meg:

- Élelmiszer- és takarmányanalitikai módszerek: módszertan, gyorsvizsgálatok, ismert és újabb élelmiszerkomponensek és szennyezők kimutatása, mérése, érzékszervi vizsgálatok, molekuláris biológiai módszerek
- Élelmiszer- és takarmány mikrobiológiai módszerek: módszertan, gyorsvizsgálatok, élelmiszeripari üzemek és forgalmazó helyek higiénája, molekuláris biológiai módszerek
- Jogi- és minőségirányítási szekció: kockázatok kezelése, minőségbiztosítás, akkreditálás, hatósági ellenőrzés, technológiai kérdések

A konferencia fővédnöke:

Zsigó Róbert, a Földművelésügyi Minisztérium élelmiszerlánc-felügyeletért felelős államtitkára

A konferencia védnökei:

Dr. Bognár Lajos, a Földművelési Minisztérium élelmiszerlánc-felügyeletért felelős helyettes államtitkára
Dr. Oravecz Márton a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal (NÉBIH) elnöke

**Részvevők és kiállítók jelentkezését várjuk,
a részletek megtekinthetők a konferencia honlapján:**

www.hungalimentaria.hu



ekol ELVÁLASZTÁSTECHNIKAI KUTATÓ ÉS OKTATÓ LABORATÓRIUM

PHD KUTATÁSI LEHETŐSÉG
CSOMAGOLÓANYAGOKBÓL KIOLDÓDÓ
KÁROS ANYAGOK VIZSGÁLATA
SZÉNHIDROGÉN-SZENNYEZÉSEK
KOR- ÉS EREDETMEGHATÁROZÁSA

www.elvalasztastechnika.hu



Szerzőink / Authors*(The affiliation of authors in English can be found on the bottom of first page of relevant articles)***AMBRUS Árpád Prof. Dr.***Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal (nyugalmazott tudományos főtanácsadó)***BOZI János Dr.***Budapesti Ward Mária Általános Iskola, Gimnázium és Zeneművészeti Szakgimnázium***GERE Attila Dr.***Szent István Egyetem, Élelmiszer-tudományi Kar, Árukezelési és Érzékszervi Minősítési Tanszék***IZSÁK Margit***Budapesti Ward Mária Általános Iskola, Gimnázium és Zeneművészeti Szakgimnázium***KAMIRÁN Áron Hamow***Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal, Növényvédőszer-maradék Analitikai Laboratórium Velence***KEMENCZEI Ágnes***Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal***KISS Anna***Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal***KÓKAI Zoltán Dr.***Szent István Egyetem, Élelmiszer-tudományi Kar, Árukezelési és Érzékszervi Minősítési Tanszék***KÖTELESNÉ SUSZTER Gabriella***WESSLING Hungary Kft.***KURUCZ Csilla***Magyar Szabványügyi Testület***LADÁNYI Márta Dr.***Szent István Egyetem, Kertészettudományi Kar, Biometria és Agrárinformatika Tanszék***MACZÓ Anita***Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal***NÉMETH Anikó***WESSLING Hungary Kft.***SIPOS László Dr.***Szent István Egyetem, Élelmiszer-tudományi Kar, Árukezelési és Érzékszervi Minősítési Tanszék***SHARMA, Virender K. Prof. Dr.***Department of Environmental and Occupational Health, School of Public Health, Texas A&M University***SZABÓ Gergely Levente***Budapest Műszaki Szakképzési Centrum, Petrik Lajos Két Tanítási Nyelvű Vegyipari, Környezetvédelmi és Informatikai Szakközépiskola***SZABÓ S. András Prof. Dr.***Budapesti Ward Mária Általános Iskola, Gimnázium és Zeneművészeti Szakgimnázium***TISZÁNÉ KÓSA Eszter Imola***Budapesti Ward Mária Általános Iskola, Gimnázium és Zeneművészeti Szakgimnázium***TÖLGYESI Ádám Dr.***Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal***Kiadó / Publisher:** Wessling Nemzetközi Kutató és Oktató Központ Közhasznú Nonprofit Kft. / Wessling International Research and Educational Centre Nonprofit Beneficial Ltd. / **HU ISSN 0422-9576****Felelős kiadó / Director:** Dr. ZANATHY László ügyvezető igazgató / CEO**Főszerkesztő / Editor in chief:** Dr. SZIGETI Tamás János**Szerkesztő / Editor:** Dr. POPOVICS Anett, SZUNYOGH Gábor**Angol fordítás / English translation:** Dr. HANTOSI Zsolt**Fotó illusztrációk készítése / Art photo designer:** TOLOKÁN Adrienn**Honlap adminisztrátor / web admin.:** JUHÁSZ Péter

Szerkesztőbizottság / Editorial Board: AMBRUS Árpád Dr. (ny. egy. tanár, NÉBIH főtanácsadó / ret. univ. prof., NFCISO chief advisor) • BÁNÁTI Diána Dr. (c. egy. tanár, SZIE; tud. igazgató, ILSI Brüsszel / hon. univ. prof., SZIU; sci. director, ILSI Bussels) • BARNA Sarolta Dr. (ig. NÉBIH KÉI / dir. NFCISO Directorate of Risk Assessment) • BÉKÉS Ferenc Dr. (az MTA külső tagja, igazgató, FBFD PTY LTD NSW Ausztrália / External Member of Hung. Acad. Sci., director of FBFD PTY LTD NSW Australia) • BIACS Péter Dr. (ny. egy. tanár, SZIE / ret. univ. prof. SZIU) • BIRÓ György Dr. (ny. egy. tanár, SOTE Egészségtudományi Kar / ret. univ. prof., SMU Faculty of Health Sci.) • BOROSS Ferenc Dr. (ív. elnök, EOQ MNB / executive chairman, EOQ HNC) • CSAPÓ János. Dr. (ny. egy. tanár, Sapientia Egyetem Kolozsvár / ret. univ. prof., Sapientia Univ. Cluj-Napoca) • DANK Magdolna Dr. (egyetemi tanár Semmelweis Egyetem Onkológiai Intézet / uni. prof. Semmelweis University, Inst. of Oncology) • FARKAS József Dr. (ny. egy. tanár, akadémikus / ret. univ. prof., academician) • GYIMES Ernő Dr. (egy. docens, Szegedi Egyetem Mérnöki Kar / univ. docent, Univ. Szeged Faculty of Eng.) • GYŐRI Zoltán Dr. (ny. egy. tanár, Debreceni Egyetem / ret. univ. prof., Univ. Debrecen) • HANTOSI Zsolt Dr. (angol nyelvi lektor, WESSLING Hungary Kft. / english lecturer, WESSLING Hungary Kft.) • HUSZTI Zsolt Dr. (Váli MEGÉR-TÉSZ / Prod. and Market. Cooperatives Váli) • KASZA Gyula Dr. (elnöki tanácsadó / presidential advisor, NÉBIH) • KOVÁCS Béla Dr. (egy. tanár, Debreceni Egyetem / univ. prof., Univ. Debrecen) • KURUCZ Csilla (szabványosító menedzser, MSZT / standardization manager, HSI) • MARÁZ Anna Dr. (egy. tanár, SZIE / univ. prof., SZIU) • MOLNÁR Pál Dr. (egy. tanár, elnök, EOQ MNB / univ. prof., chairman, EOQ HNC) • NAGY Edit (főtitkár, MAVÍZ / secretary general, Hungarian Water Utility Association) • POPOVICS Anett Dr. (szerkesztő, Wessling Közhasznú Nonprofit Kft. / editor, Wessling Nonprofit Ltd.) • SALGÓ András Dr. (ny. egy. tanár, BME / ret. univ. prof. / BTU) • SÁRDI Éva Dr. (egyetemi tanár SZIE Genetika és Növénynevelés Tanszék / univ. prof. Dept. of Genetics and Plant Breeding) • SIPOS László Dr. (egy. docens, SZIE / univ. docent, SZIU) • SOHÁR Pálné Dr. (ny. főo. vez., NÉBIH / ret. head of dept., NFCISO) • SZABÓ S. András Dr. (ny. egy. tanár, SZIE / ret. univ. prof., SZIU) • SZEITZNÉ SZABÓ Mária Dr. (ig. NÉBIH KÉI / deputy director, NFCISO Directorate of Risk Assessment) • SZIGETI Tamás János Dr. (főszerkesztő, Wessling Közhasznú Nonprofit Kft. / editor in chief, Wessling Nonprofit Ltd.) • SZUNYOGH Gábor (szerkesztő, Wessling Közhasznú Nonprofit Kft. / editor, Wessling Nonprofit Ltd.) • TÖMÖSKÖZI Sándor Dr. (egy. docens, BME / univ. docent, BTU) • VARGA László Dr. (egy. tanár, Ny-Mo Egy. Élelmiszer-tud. Intézet / univ. prof., Univ. of West Hungary, Inst. for Food Sci.) • WESSLING, Diana (a családi vállalkozás képviselője, résztulajdonos / representative family business, share holder, WESSLING Holding GmbH & Co. KG, Altenberge, Germany) • ZANATHY László Dr. (felelős kiadó, ügyvezető ig., Wessling Közhasznú Nonprofit Kft. / CEO Wessling Nonprofit Ltd.)

Nyomdai előkészítés / Layout dtp: Adworks Kft., E-mail: info@adworks.hu**Nyomda / Press office:** Készült a Possum Kft. gondozásában. (1093 Budapest, Lónyay utca 43.)**Elérhetőségeink / Contact:** H-1047 Budapest, Hungary, Fóti út 56., Telefon/Phone: +36 1 872-3600, +36 1 872 3621; Fax: +36 1 435 01 00, Mobil phone: +36 30 39 69 109, E-mail: eviko@wirec.eu; Web: www.eviko.hu**Előfizetés, hirdetés / subscription, advertising:** Dr. Popovics Anett, Tel. +36 30 638 5584, E-mail: eviko@wirec.eu, Előfizetési díj egy évre/Subscription for one year: bruttó 4200 Ft. /15 €.*2015-től minden előfizetőnk gratísz lehetőséget kap a folyóirat digitális változatának letöltésére is. From 2015 the subscription includes both the printed and digital version (every subscriber will get the printed journal and additionally gratis a possibility to download the electronic version too).**A lap 1000 példányban jelenik meg, negyedévente. / This journal appears in 1,000 copies every quarter.**Minden jog fenntartva! / All right reserved!**A hivatkozással nem rendelkező képek illusztrációk. / The pictures without any references are illustrations.**A kiadó írásbeli hozzájárulása nélkül tilos a kiadvány bármilyen eljárással történő sokszorosítása, másolása, illetve az így előállított másolatok terjesztése. / Without the written permit of the publisher, duplication, copying or dissemination of this paper by any way is prohibited.**Az Élelmiszervizsgálati Közleményeket a Wessling Nemzetközi Kutató és Oktató Központ Közhasznú Nonprofit Kft. adja ki a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatallal (NÉBIH) együttműködve. / This Journal of Food Investigation is issued by the Wessling International Research and Educational Centre Beneficial Nonprofit Ltd. with cooperation the National Food Chain Safety Office (NÉBIH).**A szakfolyóiratot a következő külföldi, illetve nemzetközi figyelő szolgáltatások vették jegyzékbe és referálják: / The Journal of Food Investigation is have been referred and listed by the next monitoring services:**Chemical Abstract Service (USA), Thomson Reuters (USA), Science Citation Index Expanded (also known as SciSearch®), Journal Citation Reports/Science Edition Elsevier's Abstracting & Indexing Database (Hollandia), SCOPUS & EMBASE***WESSLING**WESSLING Nemzetközi Kutató és Oktató
Központ Közhasznú Nonprofit Kft. (WIREC)**nébih**
termőföldtől
az asztalig

Egyszerű működtetés

Alacsonyabb kimutatási határok kevesebb mintaelőkészítéssel. A **Thermo Scientific TSQ 8000** **hármás kvadrupol GC-MS/MS** kiemelkedő, jövőbiztos analitikai teljesítményt biztosít a lehető legnagyobb termelékenység mellett. A kifejezetten robusztus, rutin elemzésekre tervezett TSQ 8000 rendszer a Thermo Scientific évtizedek óta bevált hármás kvadrupol technológiájának legkorszerűbb változatát ötvözi a kicsiszolt szoftverkörnyezettel, amely egyszerűvé teszi az MS/MS technika használatát a módszerfejlesztéstől a jelentés elkészítéséig.

Brilliáns eredmények

• www.thermoscientific.com/tsq8000

Thermo
SCIENTIFIC



Kizárólagos képviselő:

UNICAM Magyarország Kft., 1144 Budapest, Kőszeg utca 27.

Telefon: +36 1 221 5536 • Fax: +36 1 221 5543

E-mail: unicam@unicam.hu • Web: www.unicam.hu

UNICAM

Magyarország Kft.