

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

LX. ÉVFOLYAM 3. SZÁM

2014. OKTÓBER 1.

Gabonakémia és sikérerősség

Cereal chemistry and gluten strength

A glifozát maradékainak vizsgálata

Mikotoxinok álarcban

**Biológiai kontroll az élelmiszerlánc-
biztonságért**

Hársméz diasztázaktivitása

Fertőtlenítőszeres mikrobiológiája

**Fogyasztói szokások
és az élelmiszerlánc-biztonság**

A borsmenta hatóanyagai mézben

*Investigation of glyphosate residues •
Mycotoxins in mask • Biological control
for food chain safety • Diastase activity
of linden honey • Microbiology of disin-
fectant products • Consumer behaviours
and the food chain safety • Peppermint
ingredients in honey*

TARTALOM – CONTENTS

	A búza „sütőipari minőség” fogalmának alakulása a kezdetektől napjainkig a gabonavegyész szemével (Békés Ferenc)	208
	<i>The evolution of the term “baking quality” of wheat from the beginning to present time through the eyes of a cereal chemist (Ferenc Békés)</i>	
	A glifozát maradványainak jelenléte környezetünkben és analitikai meghatározásának lehetőségei (Szigeti Tamás János, Suszter Gabriella, László József)	234
	<i>The presence of glyphosate residues in our environment and possibilities for their analytical determination (Tamás János Szigeti, Gabriella Suszter, József László)</i>	
	Mikotoxinok álarcban – új takarmány- és élelmiszerbiztonsági kihívás? (Farkas József, Szeitzné Szabó Mária, Mohácsiné Farkas Csilla)	256
	<i>Mycotoxins in masks – a new food and feed safety challenge? (József Farkas, Mária Szeitzné Szabó, Csilla Mohácsiné Farkas)</i>	
	A biológiai kontroll alkalmazási lehetőségei élelmiszer eredetű patogén baktériumok gátlására (Belák Ágnes)	260
	<i>Potential application areas of biological control for the inhibition of pathogenic bacteria of food origin (Ágnes Belák)</i>	
	Hársméz diasztázaktivitásának változása hőkezelés hatására, illetve a tárolás során (Csóka Mariann, Tolnay Pál, Szabó S. András)	270
	<i>Changes in the diastase activity of linden honey due to heat treatment, and during storage (Mariann Csóka, Pál Tolnay, András S. Szabó)</i>	
	Az élelmiszeriparban alkalmazott fertőtlenítőszeres mikrobiológiai hatásvizsgálata (Németh Zsuzsanna, Holczhauzerné Faragó Judit, Gulyás Márta)	278
	<i>Testing of the microbiological efficiency of disinfectants used in the food industry (Zsuzsanna Németh, Judit Holczhauzerné Faragó, Márta Gulyás)</i>	
	Fogyasztói kutatások az élelmiszerlánc-felügyelet szolgálatában (Barna Sarolta, Kasza Gyula, Bódi Barbara)	286
	<i>Consumer investigations in service of the food-chain control (Sarolta Barna, Gyula Kasza, Barbara Bódi)</i>	
	A borsmenta hatóanyagai mézben (Nagy Éva, Prokisch József, Daróczi Lajos, Harangi János)	294
	<i>The active ingredients of peppermint in honey (Éva Nagy, József Prokisch, Lajos Daróczi, János Harangi)</i>	
	Nemzeti szabványosítási hírek (Kurucz Csilla - Csík Gabriella)	302
	<i>Review of national standardization (Csilla Kurucz - Gabriella Csík)</i>	
	Kitekintő	308
	<i>Outlook</i>	



Kedves Olvasóink!

A nyár időjárása szeszélyes volt, mintha a tavasz „*minden csínyre friss!*” áprilisa terjesztette volna ki a hatalmát az idei esztendőben. A lehullott szokatlan mennyiségű csapadék megnehezítette a gabona betakarítását. A páras, csapadékos időjárás miatt a szakemberek aggódva várták a learatott búza minőségének első vizsgálati eredményeit. Az *élet* – ahogyan a magyar nyelv a búzát az „öt” megillető pátozzsal illeti – nem szenvedte meg túlzottan a kedvezőtlen időjárási körülményeket. Egy szakmai rendezvényen² elhangzott előadás alapján bízhatunk benne, hogy az új kenyér 2014-2015-ben is jó minőségű alapanyagból készülhet.

Szerkesztőségünk nagy örömeire szolgált, hogy az új kenyér alapanyagával kapcsolatos dolgozat képezheti őszi számunk vezető anyagát, amely Békés Ferenc akadémiai székfoglaló előadásának írásos változata. A kéziratában 106 irodalmi hivatkozás – közöttük saját kutatómunkájának eredményei – alapján értekezik a búza sütőipari minőségének biológiai és molekuláris biológiai hátteréről, a búza és a belőle készült liszt korszerű vizsgálati módszereiről.

A világban egyre nagyobb teret hódítanak a géntechnológiát alkalmazó monokultúras technológiák. A molekuláris biológia vívmányainak azonban nemcsak előnyei vannak, de sajnos valóságos hátrányaival és veszélyeivel is szembe kell néznünk. A glifozát-toleráns transzgenikus növények vetésterületének növekedésével a Föld termőterületén számolnunk kell a gyomirtó szer maradékainak feldúsulásával. A Szigeti-Suszter-László szerzőhármassal a glifozát élelmiszerekből végzett analitikai vizsgálatának lehetőségeit ismerteti.

Farkas József akadémikus és Mohácsiné Farkas Csilla dolgozatának témája indirekt módon Közép-Európa éghajlatának változásához kapcsolódik. A felmelegedő, gyakran páras időjárás kedvez a mikroszkopikus gombák által termelt toxinok keletkezésének. E rendkívül veszélyes vegyületek – mintha csak intelligens módon álcázni akarnák magukat – arra is képesek, hogy különböző biológiai képletekhez kötődve „*álarcot*” viseljenek, hogy az élelmiszereket vizsgáló analitikus szemek előtt mintegy elbújjanak.

Belák Ágnes kéziratában pedig már egyenesen harcolnak a mikroorganizmusok. A patogén és romlást okozó mikrobák szaporodását a mikrovilág belső szabályainak irányított alkalmazásával ugyanis oly módon tudjuk korlátozni, ahogyan a keleti küzdősportokat művelő ember az őt megtámadó fél energiáját használva védi meg magát különösebb erő alkalmazása nélkül.

Egy cikksorozat részeként jelentetjük meg a Csóka-Tolnay-Szabó munkacsoport következő tanulmányát, amelyben a hársmez enzimháztartásának változását elemzik a méz technológiai kezelésének és tárolási körülményeinek függvényében. A méz diasztázaktivitásának mértéke egyébként e nemes élelmiszer hamisítatlanságának egyik jellemzője is. Jól illeszkedik a témához Nagy Éva és szerzőtársainak izgalmas kézírata, amelyben a gyógynövények jótékony hatású hatóanyagainak mézéből történő kimutatásáról értekeznek, miután a méhészetben a méhek takarmányába gyógynövénykivonatot tartalmazó komponenseket kevertek.

Németh Zsuzsanna és szerzőtársainak cikke izgalmas kérdést tárgyal: bizonyosak lehetünk-e abban, hogy a kereskedelemben kapható fertőtlenítő szerek használatával megoldottuk egy élelmiszeripari üzem, raktár, forgalmazó hely kémiai alapon végzett mikrobiológiai mentesítését? A válasz: nem! A szerzők vizsgálati eredményei alapján ugyanis nem ritka az olyan fertőtlenítő készítmény, amely élő mikroorganizmusokat tartalmaz.

Nemzeti szabványosítási híreinket a Magyar Szabványügyi Testület munkatársai, Kurucz Csilla és Csík Gabriella állította össze, őszi számunkat pedig a már hagyományossá vált kitekintő rovatunkkal zárjuk.

Októberi számunk forgatásához kellemes és hasznos időtöltést kívánok:

Dr. Szigeti Tamás János
főszerkesztő

Dear Readers,

The weather of this summer was as capricious as if the spring power of April, „*ready for all kinds of mischief!*”, has been extended through the whole year. The unusual amount of rain made it difficult to harvest grains. Because of the humid and rainy weather, experts waited anxiously for the first test results of the wheat harvested. *Life* – as wheat referred to in the Hungarian language, using the pathos „He or She” deserves – did not suffer too much from adverse weather conditions. Based on a lecture that was given at a professional event², we can be confident that new bread will be prepared from high quality raw materials in 2014-2015 as well in Hungary.

It was a cause of great joy for our editorial staff that a paper related to the raw material of the new bread, the written version of the academic inaugural lecture of Ferenc Békés, is the lead article of our fall edition. In his manuscript, biological and molecular biological background of the baking quality of wheat and also modern analytical methods of wheat and wheat flour are discussed, based on 106 literature references, including the results of his own research.

The mono-cultural technologies, applying genetic engineering, are becoming more and more widespread all over the world. However, the achievements of molecular biology possess not only advantages, but, unfortunately, we have to face their very real disadvantages and dangers as well. As the acreage of glyphosate-tolerant transgenic crops increases, we have to consider the possibility of the enrichment of the residues of this herbicide in the agricultural areas of the Earth. Analytical possibilities for the determination of glyphosate in foods are described in the article of Szigeti, Suszter and László.

The topic of the paper of academician József Farkas and Csilla Mohácsiné Farkas is indirectly related to changes in the weather of Central Europe. Increasingly hot and often humid weather is favourable condition for the formation of toxins produced by microscopic fungi. These extremely dangerous compounds – as if they wanted to disguise themselves in an intelligent way – are even capable of wearing „masks” by binding to different biological formulas, quasi to hide from the sight of the analysts testing foods.

Microorganisms even fight in the manuscript of Ágnes Belák. Proliferation of pathogenic and spoilage microbes can be limited by directed application of the internal rules of the micro world, in a way that is similar to how a person proficient in Eastern martial arts uses the energy of the attacker to protect himself, without resorting to excessive violence.

The next study of the Csóka-Tolnay-Szabó work group, analyzing the changes in the enzyme activity of linden honey as a function of the technological treatment and the storage conditions of the honey, is presented as part of a series of articles. The diastase activity of honey is actually an indicator of the genuineness of this precious food. This topic is complemented well by the gripping exciting manuscript of Éva Nagy et al., discussing the detection of beneficial active ingredients of herbs in honey, after mixing bee feed with herb extracts in the apiary.

An exciting question is discussed by the article of Zsuzsanna Németh et al.: can we be sure that chemical based microbiological decontamination of a production plant or a warehouse of foods or a retail establishment is solved by using commercially available disinfectants? The answer is definitely „no”! Based on the test results of the authors, it is not rare at all that disinfectants contain living microorganisms.

Our national standardization news were compiled by associates of the Hungarian Standards Institution, Csilla Kurucz and Gabriella Csík, and our fall issue is completed by our already traditional outlook columns.

I wish you a pleasant and profitable time perusing our October issue:

Dr. Tamás János Szigeti
Editor in chief

¹ Tóth Árpád: Április

² Ireks-Stamag Kft. szakmai rendezvény, Komárom, 2014. augusztus 26-28. Halasi Tibor előadása

¹ Árpád Tóth (Hungarian poet): April

² Ireks-Stamag Ltd. Professional event Komárom Hungary, 26-28 August 2014 lecture of Tibor Halasi



A kép illusztráció / The picture is illustration

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

Elhangzott 2014. február 14-én Budapesten az MTA olvasótermében

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

1. Összefoglalás

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

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

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

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

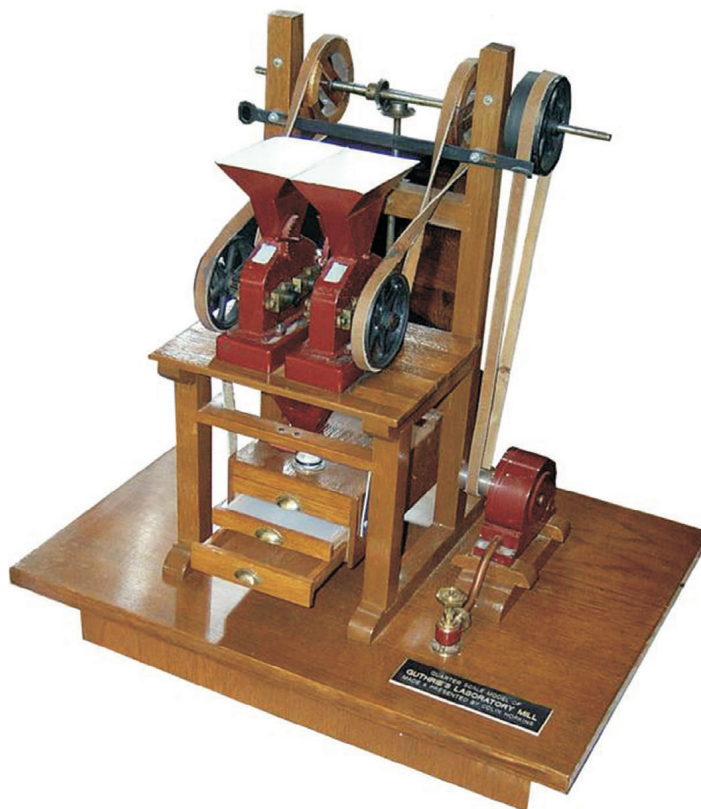
¹ FBFD PTY LTD NSW 2119 Beecroft, 34 Hull Road Australia

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

2. Bevezetés

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

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ferenc Békés, external member of MTA¹

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

1. Overview

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

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

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

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

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

2. Introduction

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

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

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

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

3. Wheat proteins and baking quality

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

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

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

3. Búzafehérjék és a sütőipari minőség

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

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

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



Glutenin

polipeptid alapegységekből
felépülő makro-polimer

Elasztikus

Glutenin

macropolymer built up by polypeptides

Elastic



Gliadin

monomer fehérjék

Plasztikus

Gliadin

monomer proteins

Plastic



Sikér

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

Gluten

complex system of hydrated glutenin and
gliadin proteins

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

4. Functional investigations in micro-scale

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

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

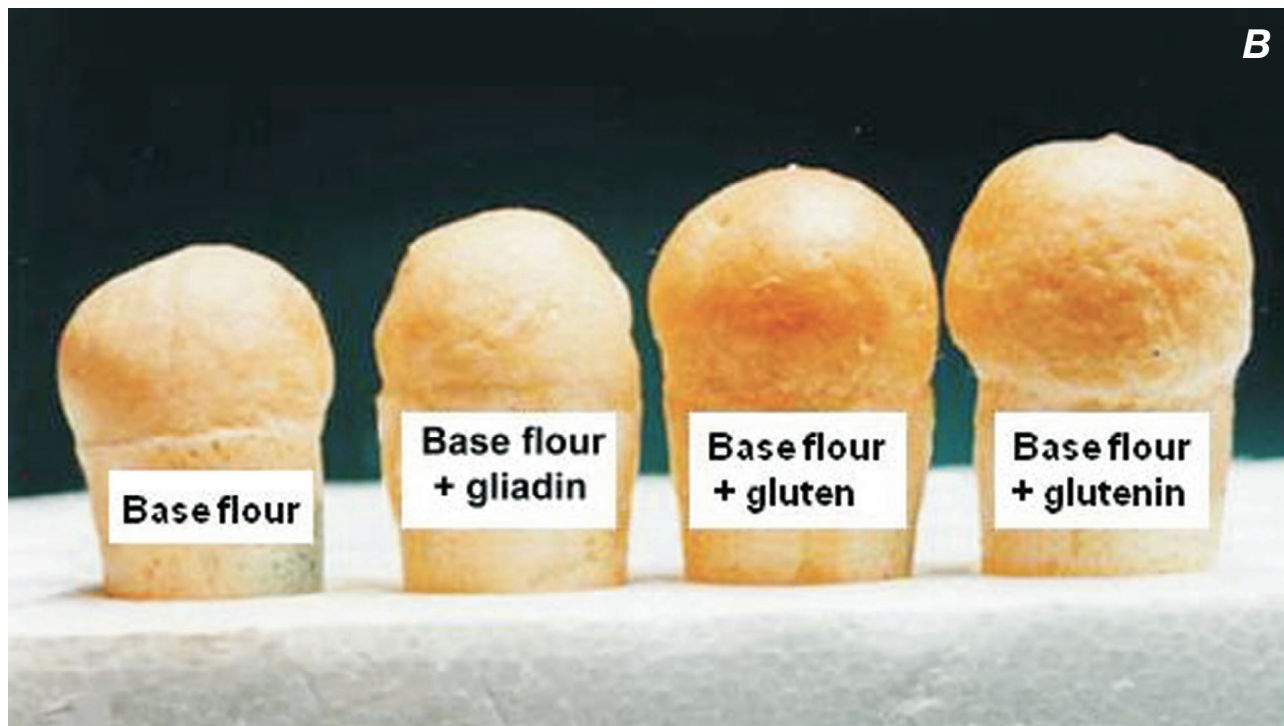
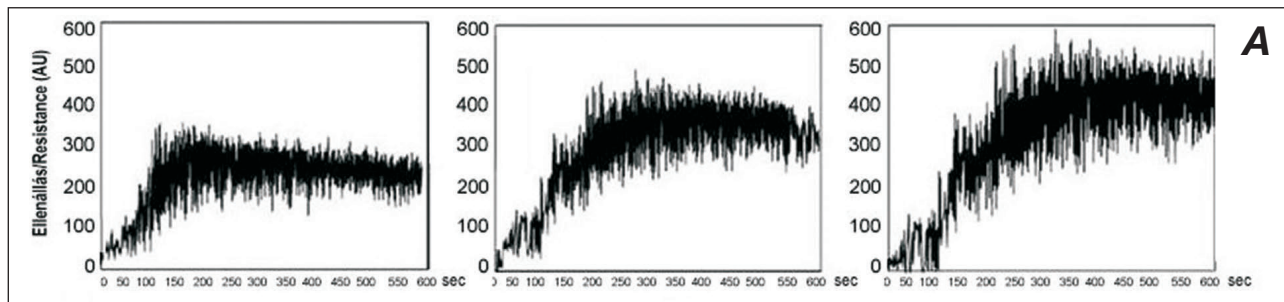
The possibility of determining the characteristics of a dough using only 2-5 grams of flour – and the capability to monitor the effects on the rheological parameters caused by 2-20 mg of supplemented protein - provided a new level investigating structure /function relationships. One of the top performance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

5. Methods relating chemical composition to functional properties

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

5.1. *In vitro* direct methods

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



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

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

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



A kép illusztráció / The picture is illustration

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

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

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

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

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

5.2. *In vivo* direct methods

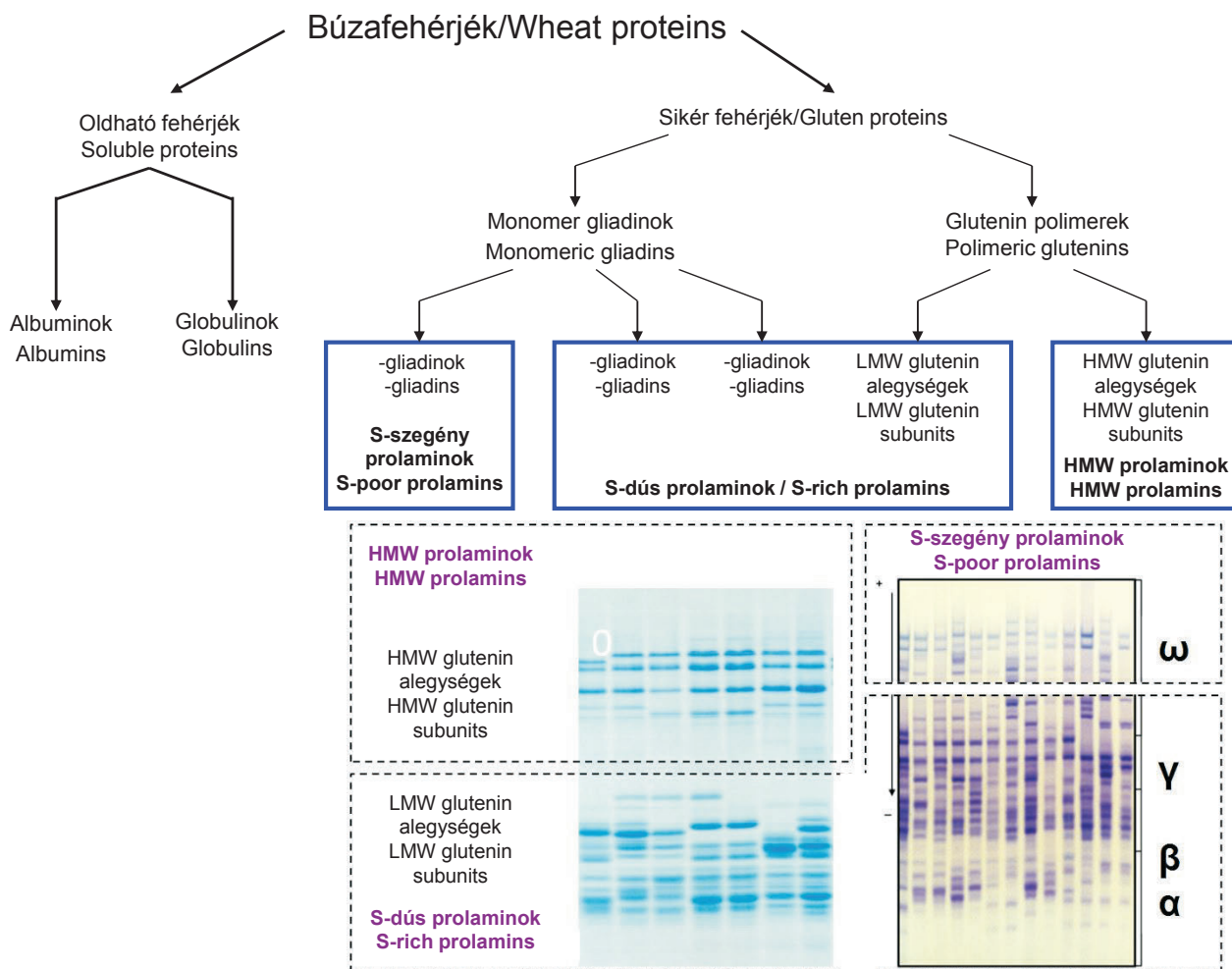
The direct proof of usefulness of the *in vitro* incorporation methodology carried out on small-scale dough testing machinery was provided by the functional characterisation of genetically modified wheat transforms with altered glutenin composition. After introducing the missing genes of different glutenin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

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

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

5.3. *In vivo* indirect methods

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



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

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

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

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

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

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

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

The novelty of these new models is four-fold:

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

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

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

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

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

6. About the quality of the Hungarian wheat

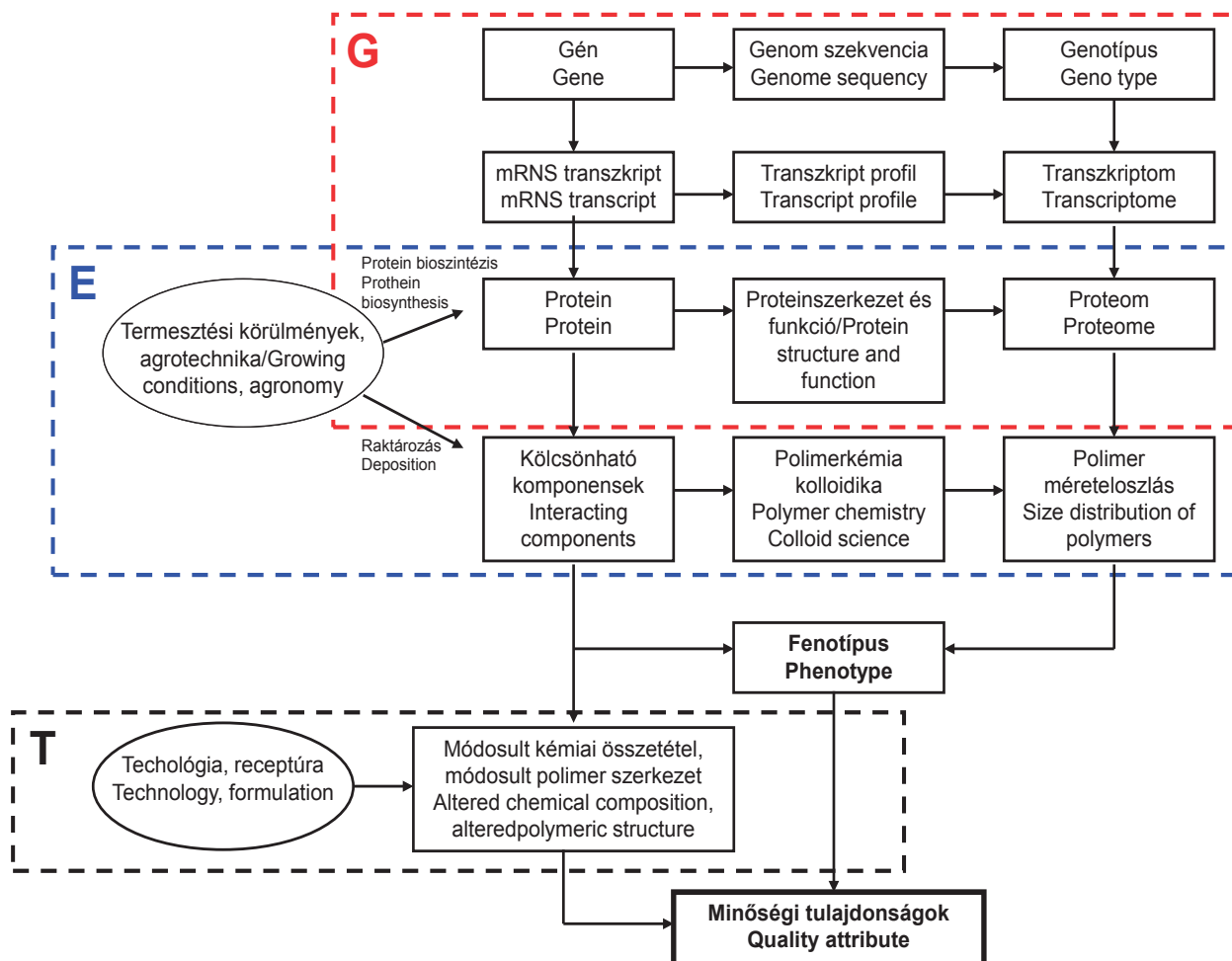
Utilising the good climatic and agronomic conditions of the Carpathian Basin, high-quality wheat has been cultivated here for thousands of years. During certain historical periods this product has been exported to considerable parts of Europe. Beyond the environmental conditions, the ultimate basis of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

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

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

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

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



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

4. Funcionális vizsgálatok mikro-méretben

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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



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

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

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

A kémiai összetétel illetve az ezt minőségileg meghatározó genetikai információt viszonyítva a minőség

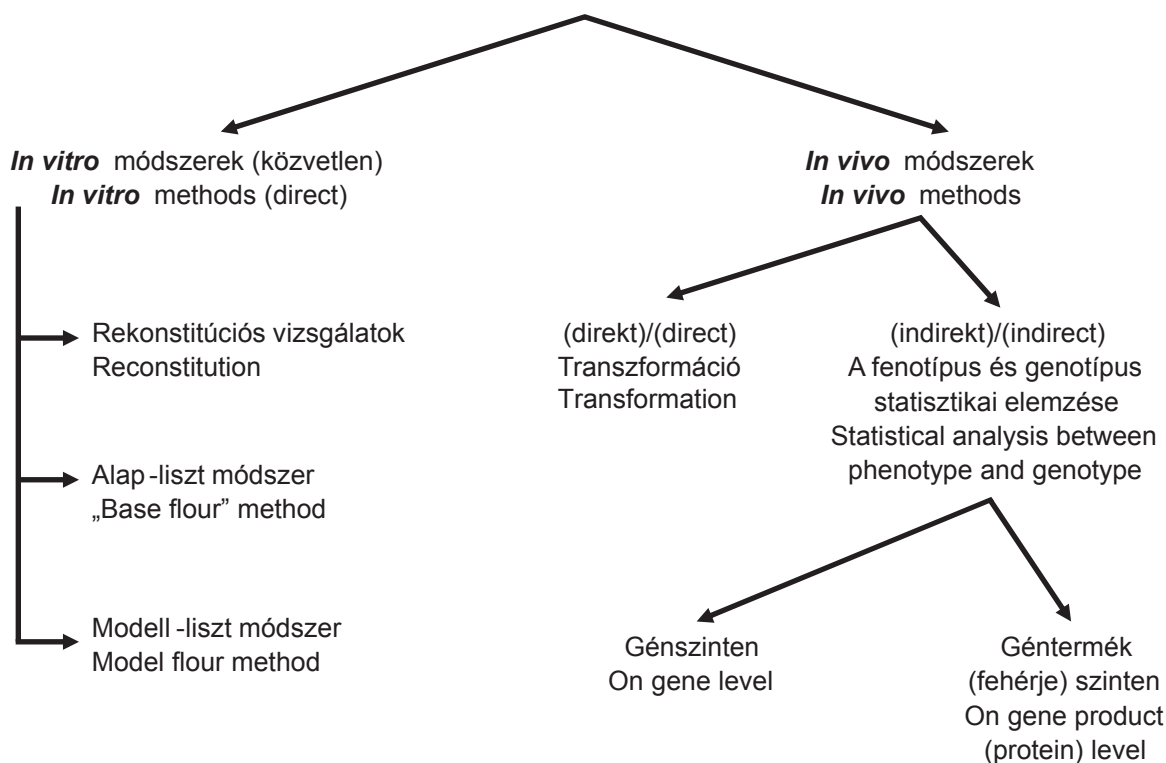
szempontjából fontos funkcionális tulajdonságokkal alapvetően három kísérleti stratégia alapján tanulmányozhatjuk (**7. ábra**): *in vitro* közvetlen, illetve *in vivo* közvetlen vagy közvetett metodikát használva [39].



A kép illusztráció! The picture is illustration

A kémiai összetétel és a funkcionális tulajdonságok viszonyának vizsgálati módszerei

Methods investigating structure/function relationships



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

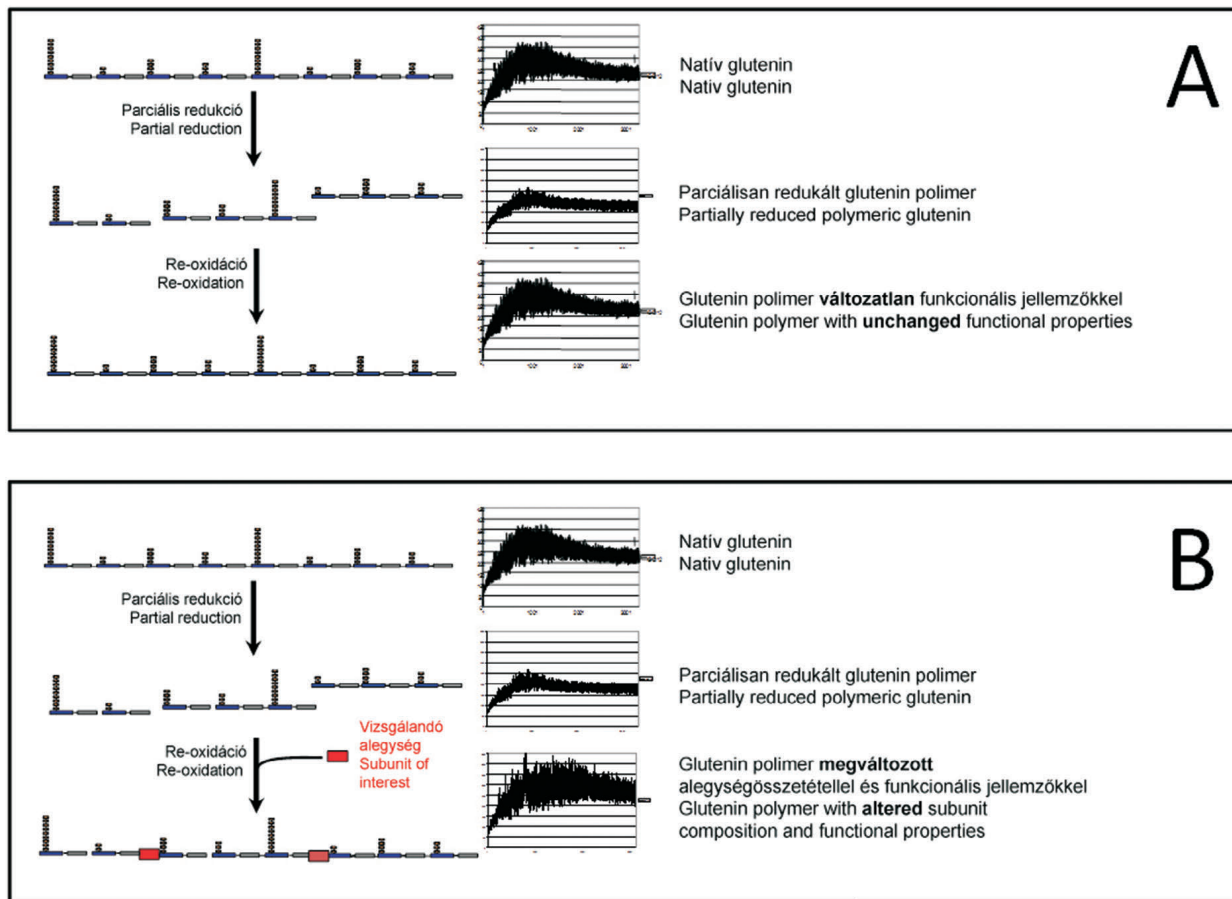
5.1. In vitro közvetlen módszerek

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

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

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

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



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

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

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

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

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

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

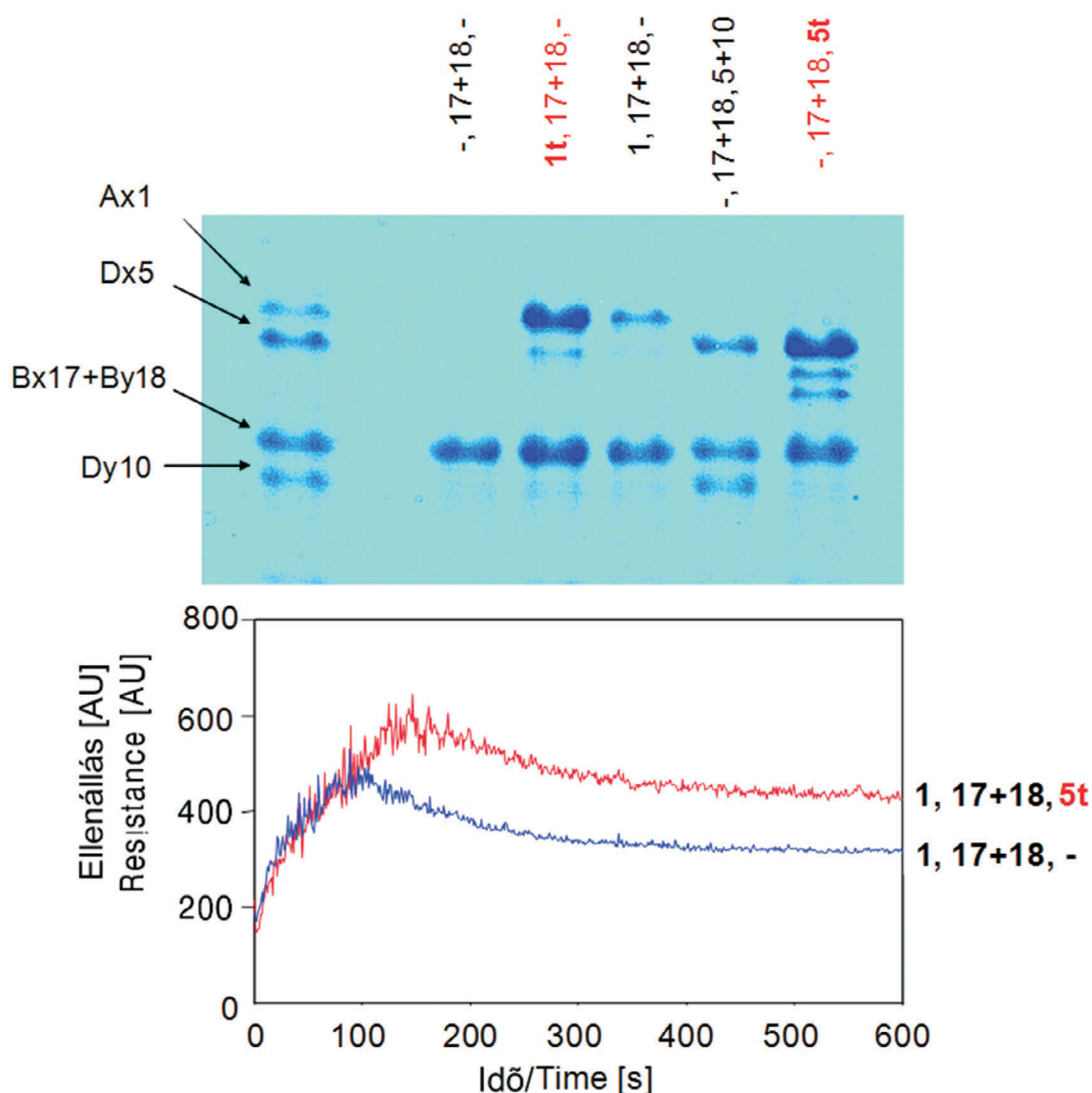
² Egységrendszer alatt azt a minimálrendszert értjük, amelynek bármely komponensét a rendszerből eltávolítva a fennmaradó rendszer nem elégíti ki az eredeti rendszer kritériumait. Míg a Chemoton mint a prokarióta sejt egységrendszere, a sztöchiokinetikai és kinetikai [16] vizsgálatok alapján megfelel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

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

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

5.2. *In vivo* közvetlen módszerek

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



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

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

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

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

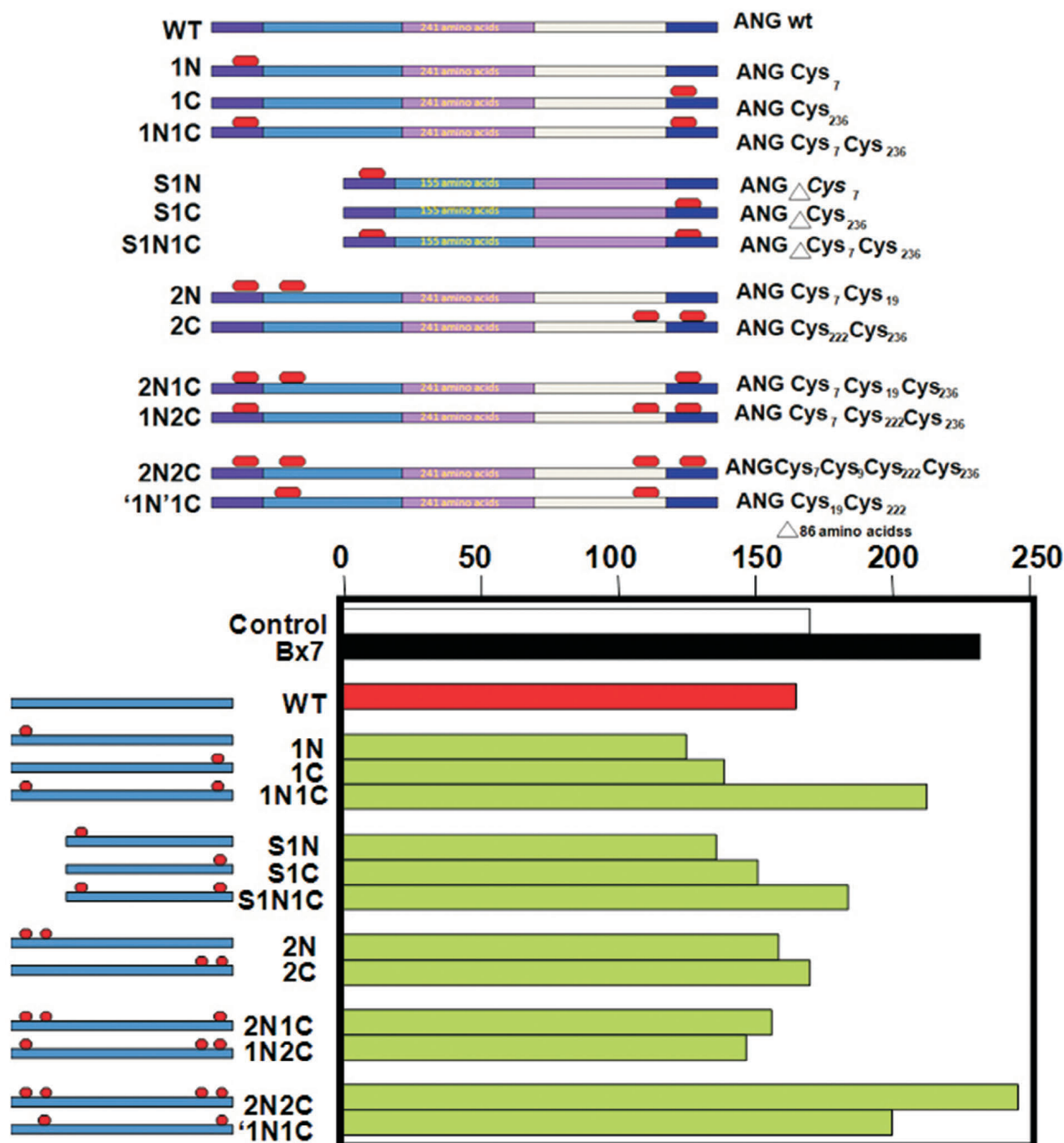
kal rávilágított a technika korlátaira is. A Dx5 és Dy10 alegység C-terminális szakaszát felcserélve, a Dx5-Dy10 hibrid *in vivo* egy intramolekuláris diszulfid hidat képezve a polimerizáció során láncterminátorként funkcionál, amelyet az *in vitro* kísérlet nem tudott modellezni.

5.3. *In vivo* közvetett módszerek

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



A kép illusztráció / The picture is illustration



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

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

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

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

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

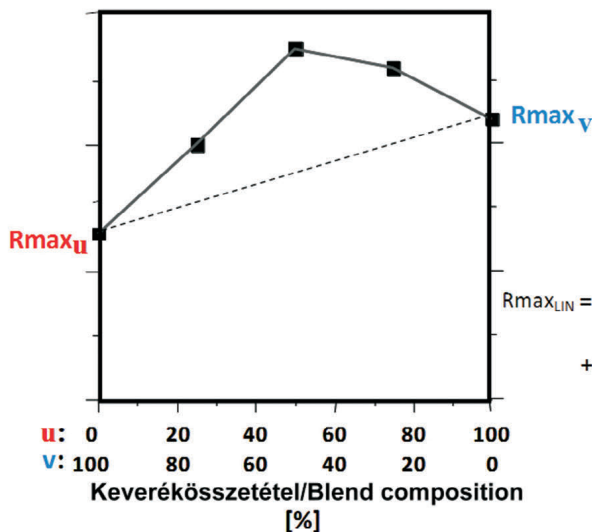
A szakirodalomban közölt alkalmazások [41], [34], [27], [39], [66], [7], [61], [65], [75] egyértelműen bizonyítják, hogy megfelelő körültekintéssel választott adatbázison és statisztikai módszerekkel kidolgozott predikciós modellek a búzaminta glutenin alléljeinek ismeretében alkalmasak a kenyértészta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

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

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

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

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



Líneáris modell/Liear model

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

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

Nem-líneáris modell
Non-linear model

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

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

6. A magyar búza minősége

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

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

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

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

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

7. Napjaink minőség-orientált búzakutatási irányai, új kihívások

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

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

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

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

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

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

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

8. Irodalmi hivatkozások / References

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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



A kép illusztráció / The picture is illustration

Az európai élelmiszerpiacra fejlesszen közvetlen európai támogatással!

**Fenntartható
élelmezés-biztonság**

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

**Inkluzív
biológiai-alapú
gazdaság**

HORIZON 2020 – új perspektívák!

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

Miért indokolt a tanácsadói segítség?

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

Fő támogatási területek:

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

**Keret:
152,5 millió euró!!!**

Készüljön fel!

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

Kérje a tanácsadó segítségét!

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

Referenciáinkról és a Horizon 2020 pályázatokról tájékozódjon honlapunkon:

www.greencarpathia.hu



A kép illusztráció / The picture is illustration

Szigeti Tamás János¹, Suszter Gabriella¹, László József¹

Érkezett/Received: 2014. március/March – Elfogadva/Accepted: 2014. szeptember/September

A glifozát maradékainak jelenléte környezetünkben, és analitikai meghatározásának lehetőségei

Kulcsszavak: növényvédelem, herbicidek, N-(foszfometil)-glicin, glifozát, Roundup, John E. Franz, maradékanyag, GMO, vizelet glifozát-tartalma, kételtűek, validálás, relatív szórás, visszanyerés

1. Összefoglalás

Amikor a mezőgazdasági termelők 1974-ben megismerkedtek az akkor vadonatúj és nagy előnyöket ígérő gyomirtó szerrel, a glifozáttal, vajon ki gondolta volna, hogy közel 40 év múltán a molekuláris biológiai nagyipar olyan növényeket fog előállítani, amelyek az addigra elavulni látszó hatóanyag diadalútját fogják beláthatatlan időre meghosszabbítani?

A glifozát – N-(foszfometil)-glicint –, mint leendő herbicid hatóanyagot 1971-ben az amerikai Monsanto cég szabadalmaztatta. A belőle előállított készítmény a „Roundup” fantázianevet kapta. A szer a növények levelébe szívódva blokkolja az 5-enolpiruvát-sikiminsav-3-foszfát szintáz enzim (EPSPS) működését, így megakadályozza az aromás gyűrűt tartalmazó aminosavak (fenilalanin, tirozin, triptofán) szintézisét. Így a permet felszívódását követő, néhány napon belül a növény elpusztul. A glifozát házi kertekben is alkalmazható az agresszíven tért hódító tarackbúza ellen, azonban – saját tapasztalatunk szerint – kissé túladagolva, a szer totális gyomirtóként tönkretelheti a kert kultúrnövényeit is.

Az 1980-as évek végén új fejezet kezdődött a molekuláris biológiai kutatások eredményeinek agrotechnikai vonatkozású alkalmazásában. Megjelentek az első szabadföldön termesztett genetikailag módosított növények. Közöttük az egyik, talán legnagyobb jelentőségű „termék” a glifozáttal szemben ellenálló növény, a Roundup Ready Soybean (RR szója) volt. Az RR szója szabadalmának tulajdonosa szintén a Monsanto.

A glifozát felhasználásának növekvő üteme, és az a tény, hogy egy európai felmérés során 182 ember vizeletében 44% gyakorisággal sikerült a hatóanyag jelenlétét kimutatni, arra ösztönzött bennünket, hogy a WESSLING Hungary Kft. laboratóriumaiban módszert állítsunk be a glifozát maradékainak kimutatására növényi és állati eredetű élelmiszerekből, mezőgazdasági terményekből. A mérésekhez LC-MS-MS technikát alkalmaztunk electrospray ionforrással és negatív ionizációval. A vegyület azonosítását az LC-MS-MS rendszerben a 168→63, 168→79 és 168→150 átmenetek figyelésével végeztük. Kidolgozott módszerünket almából és tehéntejből készült mintakivonatok elemzésével validáltuk. Ezen túlmenően a laboratóriumba érkező egyéb mátrixok elemzésénél kapott analitikai teljesítményjellemzők felhasználásával folyamatos validálást („on-going” validation) is végeztünk. Kidolgozott módszerünkkel 10 és 100 µg/kg szinten R=79,4%-os átlagos visszanyerést és RSD=12,6%-os relatív szórás-adatot értünk el. Így módszerünk ismételtetését, valamint torzítatlanságát megfelelőnek ítéltük.

Bízunk benne, hogy e herbicid-molekula maradékainak laboratóriumi vizsgálatával hozzájárulhatunk hazánk élelmiszer- és környezetbiztonságának javításához.

¹ WESSLING Hungary Kft.

¹ WESSLING Hungary Kft.

2. Bevezetés és irodalmi áttekintés

A mezőgazdasági kártevő élőlények a termények mintegy 35%-át pusztítják el, ezen belül a gyomok hozzávetőlegesen 9% veszteséget okoznak. A gyomnövények a termőtalaj vízkészletét és tápanyagkészletét csökkentik, elősegítik a kultúrnövényeket károsító egyéb élőlények terjedését, esetenként mérgező magvaikkal élelmiszerlánc-biztonsági aggályt is jelenthetnek. A gyomnövények fizikai jelenléte nehezíti a betakarítást és a termény biztonságos feldolgozását [1].

A növényvédelem hőskorában főként a rovarok ellen használt szerves foszforvegyületek és a növénybetegségeket okozó gombák féken tartására szolgáló réz-sók és az elemi kén voltak ismeretesek. A Monsanto kutatói a 70-es években figyeltek fel arra, hogy a szerves foszforvegyületek között gyomirtó hatású molekulákat is lehet találni [2]. A John E. Franz által 1971-ben felfedezett, majd néhány évvel később szabadalmaztatott N-(foszfono-metil)-glicin, közismert nevén a „glyphosate” (magyar helyesírással glifozát vagy glifozát), 1974-től indult világhódító útjára [3]. Napjainkban a glifozát a világon a legszélesebb körben forgalmazott szisztémikus herbicid, amelyet vetés előtt és vetés után egyaránt alkalmaznak. A leggyakoribb gyomirtó szere a művelés nélküli, ún. non-tillage agrotechnikának is [4]. A hatóanyag az USA-ban Roundup (Monsanto), Magyarországon Glialka (Alkaloida, Tiszavasvári) és Nitosorg (Nitrokémia, Pét) nevű készítményekben volt ismeretes, amelyeket eredetileg mélygyökerű gyomok (pl. tarackbúza – *Agropyron repens*, szulákfélék – *Convolvulus* sp. – és fenyércirok – *Sorghum halepense*) ellen használták sikeresen. Mivel e szerek hatóanyaga a melegvérű élőlényekre alig mérgező – LD₅₀-értéke 4320 mg/ttkg [2] – felhasználásuknak főként a kezelendő növénykultúra érzékenysége és nyilván a készítmények ára szabott határt. A nagyarányú felhasználást tovább növelte a biotechnológiai ipar előretörése, aminek

során glifozát-toleráns kultúrnövények is megjelentek. Közöttük a legismertebb a Monsanto által szabadalmaztatott glifozát-toleráns „Roundup Ready” fantázianevű szója.

Számításaink szerint a világon felhasznált glifozát összes mennyisége és a világ teljes, transzgénikus szója vetésterülete egymással arányosak. Ahhoz, hogy ezt az állításunkat igazolni tudjuk, szükségünk volt a világ glifozát felhasználásának adataira, illetve a GMO kultúrák vetésterületének globális összegére is. A hatóanyag világméretű felhasználási adatait csak korlátozott mértékben találtuk meg a szakirodalomban. Megbízhatónak tekinthető adatra csak 1977-re és 2011-re vonatkozóan bukkantunk. Egy 2000-ból származó dolgozat szerint 1977-ben a becsült felhasználás 74 ezer tonna volt [5], amely 2011-re hozzávetőlegesen 650 ezer tonnára, azaz közel kilencszeresére emelkedett [6]. A transzgénikus növények vetésterületeinek globális összegére a GMO Compass honlapján közölnek évekre lebontott adatokat. Az **1. ábra** az 1996 és 2013 évek közötti globális vetésterületek szigorúan monoton növekvő összegét mutatja be [7]. Az ábra adatai szerint a transzgénikus növények vetésterülete ~10 millió hektárról ~159 millió hektárra emelkedett, vagyis az összes GMO vetésterület ebben az időszakban 16-szorosára emelkedett. Ugyancsak a GMO Compass honlapján található adatokból becsülhető, hogy a transzgénikus (lényegében glifozát-toleráns) szója vetésterülete az összes GMO-vetésterülethez viszonyítva 60-70%. [8]. Ha a rendelkezésünkre álló világszerte megbízhatóságát kielégítőnek tekintjük, akkor helytállónak tűnik az a feltevésünk, miszerint a glifozátfelhasználás arányos a transzgénikus szója vetésterületének növekedésével.

A mezőgazdaságilag fejlett, intenzív termesztést folytató országokban a biotechnológiai ipar vívmányai a monokultúrák irányába mozdították el a gazdaságokat, és nincs ez másként napjainkban sem.



A kép illusztráció / The picture is illustration

The presence of glyphosate residues in our environment and possibilities for their analytical determination

Tamás János Szigeti¹, Gabriella Suszter¹, József László¹

Keywords: plant protection, herbicides, N-(phosphonomethyl)glycine, glyphosate, Roundup, John E. Franz, residual matter, GMO, glyphosate content of urine, amphibians, validation, relative standard deviation, recovery

1. Summary

When, in 1974, agricultural producers first learned about the then brand new herbicide glyphosate, promising great benefits, who would have thought that in close to forty years the molecular biology industry would be producing plants that will prolong for the unforeseeable future the triumphant march of an active ingredient that seemed to become obsolete?

Glyphosate – N-(phosphonomethyl)glycine – was patented by the American company Monsanto as a future herbicide in 1971. The product containing the compound was given the trade name „Roundup”. It acts by entering plant leaves and inhibiting the enzyme 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), preventing the synthesis of amino acids containing aromatic rings (phenylalanine, tyrosine, tryptophan). Thus, within a few days after the absorption of the spray, the plant dies. Glyphosate can also be applied in vegetable gardens against aggressively spreading couch grass, however, in our own experience, if slightly overdosed, as a total herbicide, it can wipe out the cultivated plants of the garden as well.

In the late 1980s, a new chapter has begun in the agrotechnical application of the results of research in molecular biology. The first genetically modified plants produced outdoors appeared. Among these was Roundup Ready Soybean (RR soybean) resistant to glyphosate, probably the „product” of greatest significance. The patent for RR soybean is also owned by Monsanto.

The increasing rate of use of glyphosate and the fact that, according to a European survey, the presence of the compound was detected in the urine of 182 people at a frequency of 44%, encouraged us to set up a method in the laboratories of WESSLING Hungary Kft. for the determination of glyphosate residues in foods of vegetable and animal origin, and agricultural products. LC-MS-MS technique was used for the measurements with an electrospray ion source and negative ionization. Identification of the compound in the LC-MS-MS system was performed by monitoring the 168→63, 168→79 and 168→150 transitions. The method developed was validated by the analysis of sample extracts obtained from apples and cow’s milk. In addition, an on-going validation has also been performed using the analytical performance characteristics obtained while analyzing other matrices received by the laboratory. With our method, an average recovery of R=79.4% and a relative standard deviation of RSD=12.6% was achieved at the 10 and 100 µg/kg levels. Thus, repeatability and accuracy of our method were deemed satisfactory.

We hope that we can contribute to the improvement of food and environmental safety of Hungary with the laboratory analysis of the residues of this herbicide molecule.

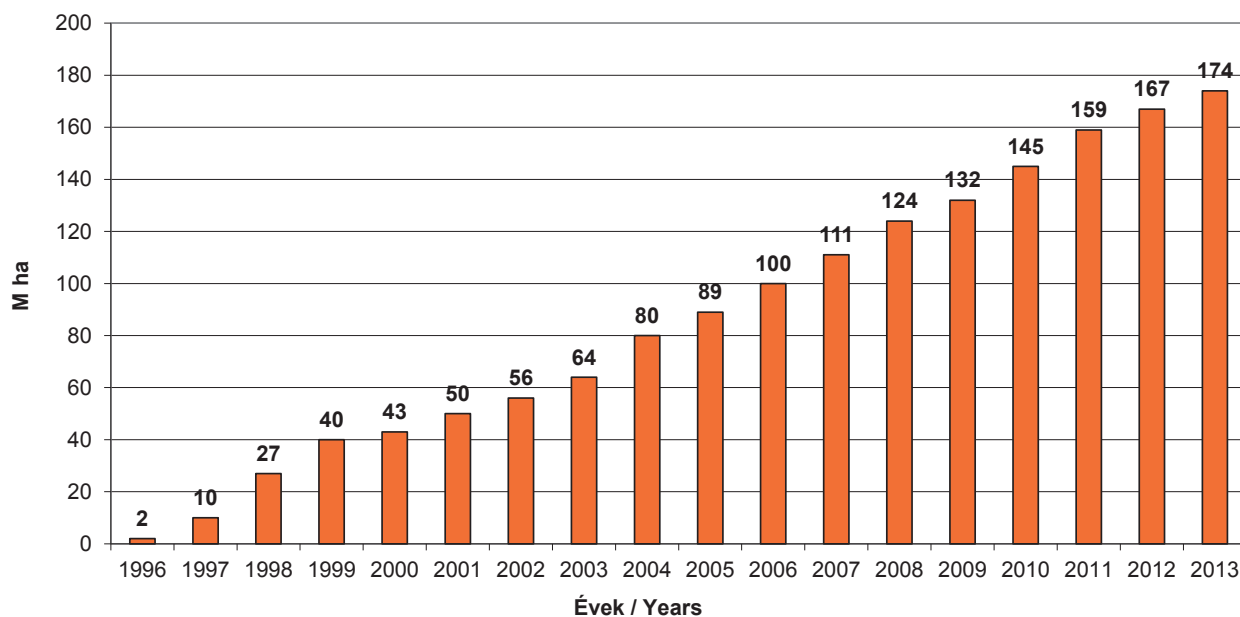
2. Introduction and literature overview

Approximately 35% of produce is destroyed by agricultural pests, and of these, roughly 9% of the loss is caused by weeds. Weeds decrease the water and nutrient supply of soil, promote the spreading of other organisms harmful to cultivated plants, and can sometimes raise a food chain safety concern because of their poisonous seeds. The physical presence of weeds hinders the harvest and safe processing of the produce [1].

In the glory days of plant protection, mainly organic phosphorus compounds used against insects, and copper salts and elemental sulfur for restraining fungi causing plant diseases were known. It was discovered by researchers of Monsanto in the 1970s that there were molecules with herbicidal effects among organic phosphorus compounds [2]. N-(Phosphonomethyl)glycine, commonly known as glyphosate, was discovered by John E. Franz in 1971, it was patented a few years later, and it started to conquer the world from 1974 [3]. Nowadays, glyphosate is the most widely used systemic herbicide in the world, used both before and after sowing. It is also the herbicide used most frequently in no-till farming [4]. Glyphosate was the active ingredient in the products Roundup (Monsanto) in the USA, and Glialka (Alkaloida, Tiszavasvári) and Nitosorg (Nitrokémia, Pét) in Hungary, and originally these were used successfully against deep rooted weeds (e.g. couch grass – Agropyron repens, the bindweed and morning glory family – Convolvulus sp. – and Johnson grass – Sorghum halepense). Because the active ingredient of these products is only very slightly toxic to warm-blooded animals – its LD₅₀ value is 4320 mg/kg [2] –, their use was only limited by the sensitivity of the plants to be treated and, of course, the price of the products. Large scale application was increased further by the upsurge of the biotechnology industry that resulted in the appearance of glyphosate-tolerant cultivated plants. Among the latter, the most well-known are glyphosate-tolerant „Roundup Ready” soybeans patented by Monsanto.

According to our calculations, the total amount of glyphosate used in the world and the total acreage of transgenic soybeans are proportional to each other. To be able to justify this statement, we needed the figures for the glyphosate use of the world, and also the global acreage of GMO crops. Unfortunately, worldwide usage data were only available in the scientific literature to a limited extent. There were reliable data only for 1977 and 2011. According to a paper from 2000, the estimated usage in 1977 was 74 thousand tons [5], increasing almost 9-fold, to roughly 650 thousand tons by 2011 [6]. Global figures for the acreage of transgenic crops are published annually on the GMO Compass website. Constantly increasing global acreage data between 1996 and 2013 are shown in **Figure 1** [7]. According to the figure, the acreage of transgenic crops increased from ~10 million hectares to ~159 million hectares, so the increase in total GMO acreage over this period was 16-fold. It can also be estimated, based on data found on the GMO Compass website, that the acreage of transgenic (basically glyphosate-tolerant) soybeans is roughly 60-70% of the total GMO acreage. [8]. If the reliability of available world data is considered satisfactory, then our assumption that glyphosate use is proportional to the increase in acreage of transgenic soybeans seems to be also correct as well.

Farms in agriculturally developed countries performing intensive production have moved towards monocultures due to the achievements of the biotechnology industry, and this trend holds true these days as well.



1. ábra A világ GMO vetésterülete
Figure 1 Global GMO cultivation (Millió ha/Million ha)

A monokultúrákban a glifozát rendszeres felhasználásával viszonylag korán megjelent a vele szembeni nem-kívánatos gyomtolerancia. Az első, toleráns gyomról szóló közlemény 2000-ben jelent meg, amelyben a szerzők Malajziában felbukkanó glifozát-toleráns gyomról, egy aszályfűfélérről (*Eleusine indica* (L) Gaertn) számoltak be. Ez a gyom a glifozát agrotechnológiai dózisének 12-szeres mennyiségét is képes volt túlélni [9].

Follings és munkatársai a tavalyi évben jelentettek meg egy dolgozatot, amelyben a glifozát-toleráns parlagfű térhódítása veszélyeire hívták fel a figyelmet kanadai megfigyelések alapján [10]. A glifozát-hatóanyag felhasználásának következményeit Darvas és munkatársai egy, 2011-ben közzétett tanulmányukban részletesen elemezték [11].

A glifozát-tartalmú készítmények toxikológiai hatásairól napjainkban is folynak a viták. A glifozátnak és készítményének, a Roundup-nak környezeti és melegvérűekre gyakorolt hatását a szer gyártója és forgalmazói alapvetően közömbösnek állították be. A gyomirtó készítmények címkéjén, különböző hirdetésekben többek között ilyen mondatokat tüntettek fel: „A glifozát kevésbé mérgezi a patkányokat, mint a nagy mennyiségben fogyasztott konyhasó”. Egy másik meglehetősen állítás: „A Roundup-ot ott is lehet használni, ahol gyerekek vagy házi állatok játszanak, mivel természetes elemekre bomlik le.” Mivel az előbb idézett állítások valótlanok bizonyultak, a gyomirtó szer előállítóját megbírságotlák, és a hatóságok kényszerítették, hogy a termék csomagol-

óanyagáról távolítsa el a fogyasztókat megtévesztő hirdetési szövegeket [12].

A kutatók bizonyos kételtűekre, madarakra nézve gyaníthatóan teratogén és mutagén hatásokat, egyéb szervezetek esetében további kedvezőtlen élettani hatásokat észleltek [13], [14], [15].

2.1. A glifozát környezet-toxikológiai hatásai

Már a transzgénikus növények termesztési időszakának korai stádiumában jelentkeztek figyelmeztető jelek, amelyek a környezeti elemek glifozáttal való fokozatos telítődésére utaltak. Egy dániai folyóirat hasábjain Anders Legarth Schmidt 2003-ban arról számolt be, hogy a Dániában is legnépszerűbb gyomirtó szer hatóanyaga átlagosan 0,54 µg/L koncentrációban volt jelen a felső talajvízrétegekben, veszélyeztetve ezzel az ország ivóvízkészletét is. A glifozát ilyen mértékű megjelenése egyértelműen cáfolja azt a feltételezést, hogy a molekulát a talaj baktériumai a detektálható szint alatti koncentrációra bontják [16].

A glifozát és a Roundup toxikológiai viselkedése számos kellemetlen meglepetést rejt a környezetbiológia, a táplálkozástudomány és a humán mérgeztan művelői számára. Lappe és munkatársai kutatásai szerint a glifozát képes megváltoztatni az egyes mezőgazdasági termékek összetételét. Ilyen módon a glifozáttal kezelt Roundup Ready szójában kevesebb flavonoid típusú vegyület szintetizálódik, mint a hagyományos növényekben [17].

In monocultures, due to regular use of glyphosate, unwanted weed tolerance against it appeared relatively soon. The first paper on tolerant weeds was published in 2000, in which the authors reported a glyphosate-tolerant weed, a species of grass in the family Poaceae (*Eleusine indica* (L) Gaertn), that had appeared in Malaysia. This weed was capable of surviving 12-fold amounts of the agrotechnological doses of glyphosate [9].

A paper was published last year by Follings et al., in which attention was drawn to dangers of the spreading of glyphosate-tolerant ragweed, based on observations in Canada [10]. Consequences of glyphosate use were analyzed in detail by Darvas et al. in their study published in 2011 [11].

There are still ongoing discussions about the toxicological effects of products containing glyphosate today. Environmental effects of glyphosate and its product, Roundup, as well as their effects on warm blooded animals were purported to be basically neutral by the manufacturer and the distributors. On the labels of herbicide products, as well as in commercials, sentences like this could be found: „Glyphosate is less toxic to rats than table salt consumed in large quantities”. Another shocking statement: „Roundup can even be used in areas where children or pets play, as it breaks down to its natural constituents.” Since the above statements were proven to be untrue, the manufacturer of the herbicide was fined, and it was forced by the authorities to remove from product packaging those statements that were misleading to consumers [12].

Physiological effects that were suspected to be teratogenic and mutagenic to certain amphibians and birds, and further adverse effects to other organisms were observed by researchers [13], [14], [15].

2.1. Toxicological effects of glyphosate on the environment

Even at the early stages of the growing period of transgenic plants there were warning signs about gradual saturation of environmental elements with glyphosate. It was reported by Anders Legarth Schmidt in a Danish journal in 2003 that the average concentration of the active ingredient of the herbicide, also most popular in Denmark, was 0.54 µg/L in the upper layers of groundwater, thus endangering the drinking water supply of the country. The appearance of glyphosate to such a high extent clearly disproves the assumption that the molecule is decomposed by soil bacteria to a concentration level below the limit of detection [16].

The toxicological behavior of glyphosate and Roundup presents many unpleasant surprises to practitioners of environmental biology, nutritional science and human toxicology. According to the research of Lappe et al., glyphosate is capable of altering the composition of certain agricultural products. For example, in Roundup Ready soybeans treated with glyphosate, the amount of flavonoids synthesized is lower than it is in traditional plants [17].

As was already mentioned above, a detailed study was published by Béla Darvas and his research group about the environmental health problems of the use of glyphosate. These are a few conclusions from the summary of the paper: With the increasing acreage of glyphosate-tolerant GM crops, one must expect that glyphosate will appear in detectable amounts in foods and feeds. This active ingredient lowers the resistance of certain plants to diseases. Glyphosate is clearly toxic to amphibians, and is suspected to be teratogenic to amphibians and birds [11]. At the same time, it promotes the colonization of the roots of cultivated plants by *Fusarium* fungi [11], [18].

The appearance of glyphosate in environmental elements was followed by a significantly more surprising and alarming sign. The amount of glyphosate and its metabolite, AMPA (aminomethylphosphonic acid) in the urine of 174 volunteers from member states of the EU – including 10 Hungarian citizens – were analyzed by GC-MS-MS by the research group of the Medical Laboratory Bremen in Germany. According to the results of the analyses, 42.5% of the samples contained glyphosate in amounts exceeding the limit of quantification (LOQ >0.150 µg/L).

Calculating with the same limit of quantification, the frequency of the metabolite of glyphosate, AMPA, was found to be 34.5%. The histogram of urine samples with analytical results above the limit of quantification is shown in **Figure 2**. The figure shows that results exceeding the limit of quantification were in the range of 155 to 260 µg/L for glyphosate, and 155 to 200 µg/L for AMPA, respectively [19]. Analytical results of the campaign of the Bremen laboratory confirm the definite need for an analytical method capable for the measurement of the active ingredients of high polarity pesticides.

3. Materials and methods

3.1. Analytical possibilities to determine glyphosate residues

The glyphosate molecule (**Figure 3**) is strongly polar, and even though it is small – its molecular mass is only 169 atomic mass unit –, it is not volatile. Its light absorption is weak, has no fluorescence activity, and has a low retention in reverse phase liquid chromatographic systems. All these properties are fundamentally unfavorable for the determination and quantification of the compound. Supposedly this is the reason why there are very few laboratories in the European Union who can determine glyphosate and several other pesticide residues of similar polarity with low limits of quantification (0.01-0.05 mg/kg). Nevertheless, there is ample material in the scientific literature about the determination of the residues of glyphosate and its decomposition product, AMPA, using methods based on different principles.

The analysis of glyphosate residues was developed at the end of the 1990s mainly for testing water and soil samples, probably because residues of the active ingredient and its decomposition product, AMPA (aminomethylphosphonic acid), were primarily observed in soils and aqueous environmental elements in the beginning. The methods described in the scientific literature and reviewed by us were based mainly on the preparation of post-column OPA (o-phthalaldehyde) derivatives and pre-column FMOC (9-fluorenylmethoxycarbonyl) derivatives. Let's first review a few methods based on post-column derivatization!

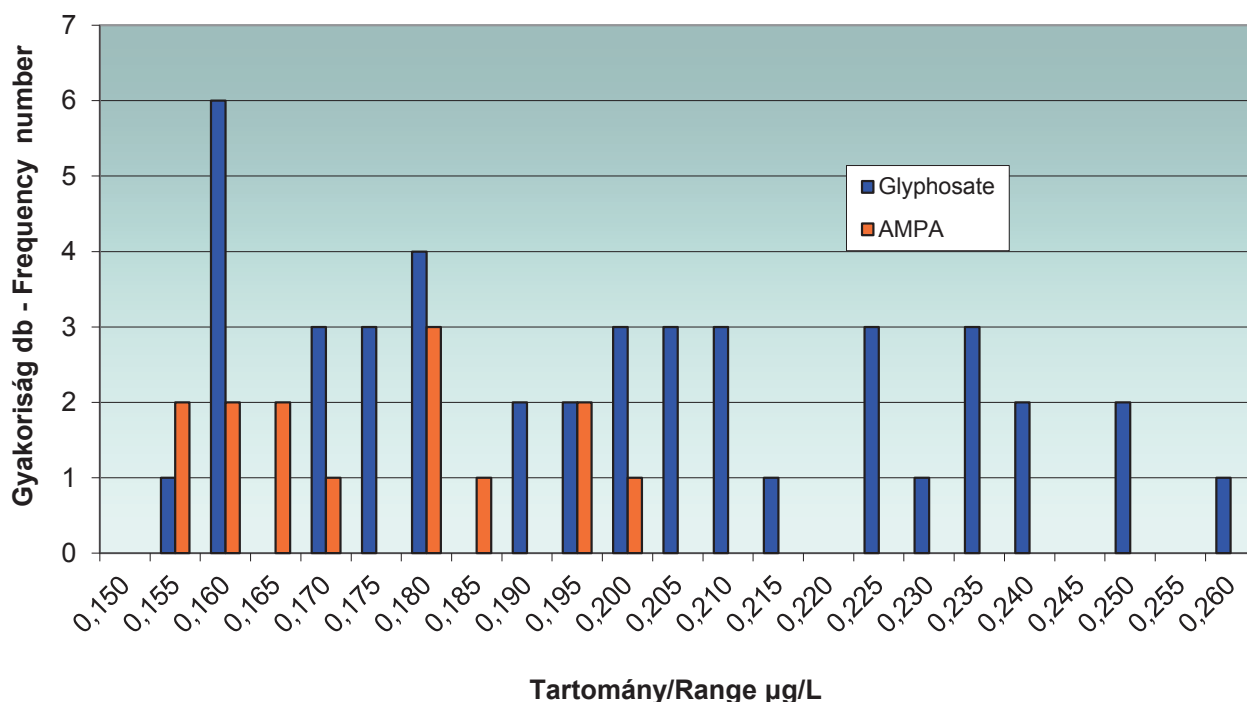
According to an EPA (Environmental Protection Agency, USA) method from 1990 by Winfield et al., glyphosate residues of drinking water samples filtered through a 0.45 µm filter were separated on a Bio-Rad Aminex A-9 cation exchange column, and molecules eluted from the analytical column were oxidized at 68 °C by calcium hypochlorite. The reaction product of the oxidation, glycine, reacted at 38 °C with o-phthalaldehyde (OPA) in the presence of mercaptoethanol. Detection was performed at 455 nm after excitation at 340 nm of the fluorescent compound obtained. The linear range of the method was between 25 and 2500 µg/L glyphosate concentrations. Recovery in this range was between 96% and 108%, and the relative standard deviation was $1.25\% \leq RSD \leq 12.3\%$ [20].

Amint azt már fentebb említettük, Darvas Béla és kutatócsoportja részletes tanulmányt közölt a glifozát alkalmazásának környezet-egészségügyi problémáiról. Következzék néhány gondolat a dolgozat összefoglalójából: A glifozát-tűrő GM-növénykultúrák területének növekedtével számítani kell arra, hogy a glifozát detektálható mennyiségben fog megjelenni az élelmiszerekben és takarmányokban is. A hatóanyag csökkentheti bizonyos növények betegségekkel szembeni ellenálló képességét. A glifozát egyértelműen mérgező a kételtűekre, teratogenitását kételtűek és madarak esetében gyanítják [11]. Ugyanakkor elősegíti a Fusarium gombák megtelepedését a kul-

túrnövények gyökerein [11], [18].

A glifozát környezeti elemekben való megjelenését ennél egy számottevően meglepőbb, és figyelmeztetőbb jel követte. Németországban a Medical Laboratory Bremen kutatócsoportja az Európai Unió tagállamaiból 174 önkéntes személy – közöttük 10 magyar állampolgár – vizeletében GC-MS-MS technikával vizsgálták a glifozát és bomlástermékének, az AMPA (aminometil-foszfonsav) mennyiségét. A vizsgálat eredményei szerint a minták 42,5%-ában mutatták ki a mérési határ (LOQ >0,150 µg/L) feletti mennyiségben a glifozátot.

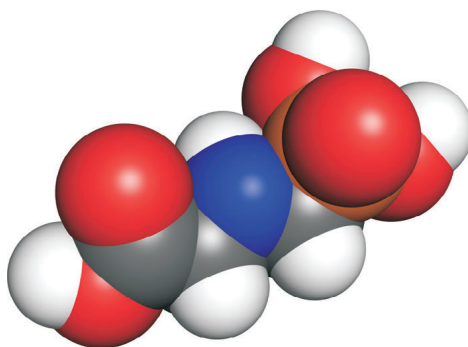
LOQ (>0,150 µg/L) feletti vizeletminták glyhosate- és AMPA-tartalma
Urine samples above the LOQ value (>0,150 µg/L) of glyphosate and AMPA



2. ábra. A Medical Laboratory Bremen mérési eredményeiből készített hisztogram [19].
Figure 2 Histogram of the analytical results of the Medical Laboratory Bremen [19].

Ugyanezzel az alsó méréshatárral számolva a glifozát bomlástermékének, az AMPA-nak a gyakorisága 34,5%-nak adódott. A **2. ábrán** az alsó méréshatár feletti vizeletminták mérési eredményeinek hisztogramját mutatjuk be. Az ábráról leolvasható, hogy a méréshatár feletti vizsgálati eredmények a glifozát esetében 155 és 260 µg/L tartományba, AMPA ese-

tében pedig a 155 és 200 µg/L tartományba estek [19]. A brémai laboratórium figyelemreméltó kampányának vizsgálati eredményei is alátámasztják, hogy feltétlenül szükségünk van a nagy polaritású növényvédő szerek hatóanyagainak mérésére szolgáló analitikai módszerre.



A kép illusztráció / The picture is illustration

The test method of the AOAC is based on similar techniques and principles. According to this procedure, environmental water samples, after filtration, are evaporated to dryness on rotary vacuum evaporator. The evaporation residue was dissolved in an EDTA solution (ethylenediaminetetraacetic acid), glyphosate content of the sample was oxidized by calcium hypochlorite, and the glycine eluted from the HPLC column was then reacted with OPA in the presence of mercaptoethanol. The measurement range was found to be linear between glyphosate concentrations of 0.5 and 5000 µg/L [21].

A standard operating procedure (SOP) issued by Monsanto in 2004 was validated for the determination of glyphosate and AMPA residues in agricultural products. The method was developed for the analysis of soybeans, cereals, peanuts, cottonseed, alfalfa, cabbage, grapes and vegetable oils. Active ingredient content of the different crops was extracted using a 1:3 mixture of chloroform and hydrochloric acid (0,1 mol/L). The extract was centrifuged, and analysis was performed on the supernatant. Glyphosate and AMPA was bound on a column containing Chelex® 100 cation exchange resin in the Fe(III) form. Active ingredients were eluted from the ion exchange column using hydrochloric acid, the eluate was evaporated to dryness, and post-column OPA derivatization was applied after HPLC separation, in accordance with the literature references cited above. In this case the oxidation agent was a sodium hypochlorite solution. Lower limit of quantification of the method was 0.05 mg/kg glyphosate and AMPA content, with sample amount between 4 and 30 g. Recovery of the method was between 70 and 90%. Relative standard deviation was $RSD \leq 30\%$, depending on the matrix analyzed [22].

As an interesting point, let's review a gas chromatographic glyphosate determination method as well! Glyphosate and its decomposition product, AMPA, were extracted from agricultural products using water by Alferness and Wiebe. The raw extract was purified on a cation exchange column and aqueous solution of the purified sample was reacted directly with heptafluorobutanol and trifluoroacetic anhydride. The derivative was separated on a capillary column and detected using a mass selective detector. The method developed by them was tested in 13 laboratories of 5 countries as part of a proficiency testing scheme, during which cereals, feeds produced from soybeans, and peanuts were analyzed. Glyphosate recovery was 91% in their experiments. Relative standard deviation was found to be $RSD = 11\%$ [23].

In recent years, there have been several multi residue methods (MRM) published for pesticide residue analysis, which are capable of analyzing the residues of a large number of active ingredients in only a few steps in different samples. Such methods include, for example, methods indicated by the following acronyms: QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe), QuPPE (Quick Polar Pesticides Method). These methods usually require the application of separation techniques coupled with triple-quad MS (QQQ), or quadrupole-time-of-flight MS (Q-TOF) spectrometers. Despite the flexibility and versatility of these methods, there remain always several active ingredients whose residues cannot be determined using multi-methods, with the required sensitivity and accuracy. Molecules of certain polar herbicides, such as glyphosate, glufosinate or the glyphosate metabolite AMPA, and also the analysis of some phenoxy-carboxylic acid derivatives requires special pre-column derivatization if one wants to avoid low sensitivity at detection, which is general in the case of methods with

no derivatization. When analyzing glyphosate, glufosinate or AMPA, ^{13}C and ^{15}N nuclide labelled internal standards are added to the aqueous extracts of the samples. Samples are then purified on a dispersive solid phase cation exchange (DSPE) column, and active ingredients are converted into FMOc (9-fluorenylmethyloxycarbonyl) derivatives immediately. FMOc derivatives are dissolved in acetonitrile, and the solution is analyzed by some kind of UPLC-MS-MS (Ultra High Pressure Liquid Chromatography) system [24].

Next, a few methods based on pre-column derivatization are reviewed, again with no claim to being exhaustive.

A completely automated water analysis method was developed by Vreeken et al. In their method, the active ingredient contents of drinking waters, different groundwaters and communal wastewaters was converted into FMOc derivatives, and these were purified using solid phase extraction (SPE). The purified derivatives were separated by liquid chromatography, followed by detection using an MS-MS system with an ionspray ion source. Substances in the concentration range of 0.05 to 3.0 µg/L were measured in the water samples analyzed. 390, 168 and 150 transitions of the FMOc derivative of glyphosate were detected in the MS-MS total ion chromatogram. Chromatographic separation required 62 minutes. The lower limit of quantification (LOQ) for glyphosate was 0.03 µg/L, recovery was 94%, and the relative standard deviation (SD) was $< 9\%$ [25].

FMOc derivatives were prepared by Lee et al. as well, in order to analyze water samples. The analytical technique used by them [26] was identical to that applied by Vreeken et al. [25].

A procedure was developed by Ibáñez et al., also for the analysis of water and soil samples. The method involved the preparation of FMOc derivatives in their case as well. Herbicide residues in water samples were derivatized directly with FMOc-Cl at pH 9.0, then filtered through a 45 µm filter. Soil samples were extracted with a potassium hydroxide solution, diluted, the pH was then adjusted to 9.0, and FMOc derivatives were prepared. Derivatized samples again were filtered through a 45 µm filter. The compounds sought were detected using a tandem MS-MS system with an electrospray ion source, following high performance liquid chromatography separation. The method was validated for surface and groundwaters, as well as soil samples. The lower limit of quantification for water samples was 50 ng/L, while it was 5 µg/kg for soil samples. Recovery was between 89 and 106%. Relative standard deviation was $RSD < 9\%$ when analyzing water samples, and $RSD > 7\%$ for soil samples [27].

In addition to FMOc, several other derivatization reagents were tried by Le Fur et al. in order to determine glyphosate in water samples: dansyl chloride, p-toluenesulfonyl chloride, and also phenyl isothiocyanate. During their experiments, FMOc was found to be the most favorable and most efficient pre-column derivatization reagent. The linear range of their method was reported to be between 0.10 µg/L and 2.00 µg/L. Relative standard deviation of the analyses was $RSD < 20\%$ [28].

Methods without derivatization for the determination of glyphosate and other polar pesticides were developed by several researchers. Works cited below report just such analytical methods.

A procedure without derivatization was developed by Shuang et al. for the determination of glyphosate and its decomposition product, AMPA (aminomethylphosphonic acid)

3. Anyag és módszer

3.1. A glifozát maradékanyagai meghatározásának analitikai lehetőségei

A glifozát molekulája (**3. ábra**) erősen poláros, mérete kicsiny – tömegszáma mindössze 169 atomi tömeg egység –, ennek ellenére nem illékony. Fényelnyelése gyenge, fluoreszcenciás aktivitása nincsen, retenciója fordított-fázisú folyadékkromatográfiai rendszerekben csekély. Mindezek a tulajdonságok alapvetően kedvezőtlenek a vegyület kimutatása és mennyiségi meghatározása szempontjából. Feltehetően ez az oka annak, hogy az Európai Unióban kevés laboratórium vállalkozik a glifozát és még néhány, hasonló polaritású növényvédő szermaradék analizisére alacsony kimutatási határ (0,01-0,05 mg/kg) mellett. Mindemellett a szakirodalomban gazdag anyag található, amely a glifozát és bomlástermékének, az AMPA maradékainak meghatározásáról szól különböző elveken alapuló módszerek alkalmazásával.

A glifozát maradékainak vizsgálatát a 90-es évek végén főként víz- és talajminták elemzése végezték ki, valószínűleg azért, mert a hatóanyag maradvékai és bomlásterméke az AMPA (aminometil-foszfonsav) kezdetben elsősorban a talajokban és a vizes környezeti elemekben tűnt fel. Az áttanulmányozott szakirodalomban ismertetett módszerek főként kolonna utáni OPA-származékok (o-ftál-aldehyd) és kolonna előtti FMOC-származékok (9-fluorenil-metil-kloroformát) képzésén alapultak. Elsőként tekintünk át néhány, oszlop utáni származékképzésen alapuló módszert!

Egy 1990-ből származó EPA (Environmental Protection Agency, USA) módszer szerint Winfield és munkatársai 0,45 µm-es szűrőn szűrt ivóvízminták glifozát maradvékait Bio-Rad Aminex A-9 kation-cserélő oszlopon választották el, majd az analitikai oszlopról eluálódó molekulákat 68 °C-on kalcium-hipoklorittal oxidálták. Az oxidáció reakciótermékeként kapott glicint 38°C-on o-ftál-aldehyddel (OPA) reagáltatták merkaptóetanol jelenlétében. A kapott fluoreszkáló vegyületet 340 nm-en gerjesztve 455 nm-en detektálták. A módszerrel elérhető lineáris tartomány 25 és 2500 µg/L glifozát koncentrációt ölelt fel. A visszanyerés e tartományban 96% és 108% közötti érték volt, a relatív szórás pedig $1,25\% \leq RSD \leq 12,3\%$ értékek közé esett [20].

Az előbbihez hasonló technikán és elven alapul az AOAC teszt módszere is. Az eljárás szerint a környezetből származó vízmintákat szűrés után rotációs vákuumbepárló készülékben szárazra párolták. A bepárlási maradvékot EDTA-oldattal (etilén-diamin-tetraecetsav) vették fel, majd a minták glifozáttartalmát kalcium-hipoklorittal oxidálva a HPLC-oszlopon glicinként eluálódó vegyületet merkaptóetanol jelenlétében OPA-val reagáltatták. A mérési tartományt 0,5 és 5000 µg/L glifozát koncentrációk között találták lineárisnak [21].

A Monsanto által 2004-ben kiadott sztenderd mérési eljárást (SOP) mezőgazdasági termékek glifozát- és AMPA-maradvékainak meghatározására validálták. A módszert szójabab, gabonafélék, mogyoró, gyapotmag, lucerna takarmány, káposzta, szőlő és növényi olajok vizsgálatára dolgozták ki. A különböző termények hatóanyagtartalmát 1:3 arányú kloroform-sósav (0,1 mol/L) elegyével extraháltatták. A kivonatot centrifugálták, majd a felülúszó vizes fázisból végezték az analízist. A glifozátot és az AMPA-t Fe(III) formájú Chelex® 100 kation-cserélő gyantát tartalmazó oszlopon kötötték meg. Az ioncserélő oszlopról a hatóanyagokat sósavval eluáltatták, szárazra párolták, majd az előbbi irodalmi hivatkozásokban részletezett módon HPLC-elválasztást követően oszlop utáni OPA-származékképzést alkalmaztak. Az oxidáló szer ez esetben nátrium-hipoklorit oldat volt. A módszer alsó mérési határa 0,05 mg/kg glifozát- és AMPA-tartalom, 4 és 30 g közötti mintabeméréssel. A módszer visszanyerése 70 és 90% közé esett. A relatív szórás $RSD \leq 30\%$ volt a vizsgált mátrixtól függően [22].

Az érdekesség kedvéért tekintsünk át egy gázkromatográfiai glifozát-meghatározási módszert is! Alferness és Wiebe mezőgazdasági terményekből vízzel extrahálta a glifozátot és bomlásterméket, az AMPA-t. A nyers extraktumot kation-cserélő oszlopon tisztították. A tisztított minta vizes oldatát közvetlenül reagáltatták heptafluor-butanol és trifluor-ecetsav-anhidriddel. A származékokat kapilláris oszlopon elválasztva tömegszelektív detektorral határozták meg. Kidolgozott módszerüket 5 ország 13 laboratóriumában körvizsgálat keretein belül tesztelték, aminek során gabonaféleségeket, szójából készült takarmányt, mogyoróbelet vizsgáltak. Kísérleteikben a visszanyerés glifozátra vonatkozóan 91%-nak adódott. A relatív szórás $RSD=11\%$ -nak találták [23].

Az utóbbi években a növényvédő szerek maradvékainak vizsgálata céljából számos multi maradvék módszer (Multi Residue Method; MRM) látott napvilágot, amelyeknek alkalmazásával néhány lépésben nagyszámú hatóanyag maradvékai analizálható különböző mintákból. Ilyen módszerek például a QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe), QuPPE (Quick Polar Pesticides Method) mozaikszavakkal jelzett eljárások. A módszerek általában triple-quad MS (QQQ), vagy quadrupol-repülési idő MS (Q-TOF) spektrométerekkel kapcsolt elválasztás-technika alkalmazását követelik meg. E módszerek rugalmassága és sokoldalúsága ellenére mindig marad néhány olyan hatóanyag, amelynek maradvékait a multi-módszerek alkalmazásával mégsem lehet kellő érzékenységgel és pontossággal meghatározni. Bizonyos poláros herbicidek molekulái, mint például a glifozát, glufozinát, illetve a glifozát metabolitja, az AMPA, valamint néhány fenoxi-karbonsav származék analitikája speciális, kolonna előtti származékképzést igényel, ha el akarjuk kerülni a kimutatásnál jelentkező alacsony érzékenységet, amely a származékképzés nélküli eljárásoknál általános jelenség. A glifozát, glufozinát és AMPA vizsgálatánál a minták vizes ext-

raktumához ^{13}C és ^{15}N nuklidokkal jelölt belső sztenderdek adnak. A mintákat ezután diszperzív szilárdfázisú kation-cserélő kromatográfiás oszlopon (DSPE) tisztítják, majd a hatóanyagokból azonnal FMOC-származékokat (9-fluorenil-metil-oxi-származékokat) képeznek. Az FMOC-származékokat acetonitrilben oldják fel, majd a kapott oldatot valamilyen UPLC-MS-MS (Ultra High Pressure Liquid Chromatography) rendszerben analizálják [24].

A továbbiakban néhány, kolonna előtti származékképzésen alapuló módszert tekintünk át, továbbra is a teljesség igénye nélkül.

Vreeken és munkatársai egy teljesen automatizált vízlemezési módszert dolgoztak ki. Módszerükben az ivóvizek, különböző felszín alatti vizek, valamint települési szennyvizek hatóanyagtartalmából FMOC-származékokat állítottak elő, majd szilárd-fázisú extrakcióval (SPE) tisztították azokat. A tisztított származékokat folyadék-kromatográfiás elválasztást követően ionspray ionforrással ellátott MS-MS rendszerben detektálták. A vizsgált vízmintákban 0,05 és 3,0 $\mu\text{g/L}$ koncentráció-tartományokban mérték az anyagokat. Az MS-MS totálion kromatogramon a glifozát FMOC-származékának 390, 168 és 150 átmeneteit detektálták. A kromatográfiás elválasztás 62 percet vett igénybe. A glifozátra vonatkozó alsó méréshatár (LOQ) 0,03 $\mu\text{g/L}$, a visszanyerés 94%-os, a relatív szórás (SD) <9% volt [25].

Lee és munkatársai szintén FMOC-származékokat állítottak elő, vízminták vizsgálata céljából. Analitikai technikájuk azonos volt a Vreeken és munkatársai [25] által alkalmazott technikával [26].

Ibáñez és munkatársai szintén víz- és talajminták vizsgálatára dolgoztak ki eljárást. A módszer az ő esetükben is FMOC-származékképzést foglal magában. A vízmintákban a herbicid-maradékokat 9,0-es pH mellett FMOC-val közvetlenül származékolják, majd 45 μm -es szűrőn szűrték. A talajmintákat kálium-hidroxid oldattal extrahálták, hígították, majd a pH-t 9,0-re állítva elkészítették az FMOC-származékokat. A származékolat mintákat szintén 45 μm -es szűrőn szűrték. A nagyteljesítményű folyadék-kromatográfiás elválasztást követően electrospray ionforrásra kapcsolt tandem MS-MS rendszerrel detektálták a keresett vegyületeket. A módszert felszíni, felszín alatti vízre és talajmintákra is validálták. Az alsó méréshatár vízmintákra 50 ng/L , talajmintákra pedig 5 $\mu\text{g/kg}$ volt. A visszanyerés 89 és 106% közé esett. A vízminták elemzésénél a relatív szórás RSD <9%-nak, talajminták vizsgálatánál pedig RSD >7%-nak adódott [27].

Le Fur és munkatársai az FMOC-n kívül többféle származékképző reagenst próbáltak ki a glifozát vízmintákból való meghatározása céljából: danzil-kloridot, p-toluol-szulfonilkloridot, valamint fenil-izotiocianátot. Kísérleteik során úgy találták, hogy a legkedvezőbb és leghatékonyabb oszlop előtti származékképző reagens az FMOC. Módszerük lineáris tartományát 0,10 $\mu\text{g/L}$ és 2,00 $\mu\text{g/L}$ értékek között jelölték meg. A mérések relatív szórása RSD <20% volt [28].

in different food raw materials of plant origin. Different teas, green dates, green soybeans and radishes were analyzed by them. Samples were extracted with high purity water, extracts were cleaned on an anion exchange column. Following high performance liquid chromatography, electrospray ionization was applied. Detection was performed on an MS-MS system in negative ion mode, with the 168→124, 81 and 63 transitions. Detection limit was 0.01 mg/kg, and the lower limit of quantification for glyphosate was 0.02 mg/kg. Recovery was between 78 and 113%, depending on the matrix. Relative standard deviation was 3.2% <RSD<11.0% [29].

Methods without derivatization were set up for the measurement of high polarity pesticide molecules that cannot be analyzed by the above-mentioned QuEChERS procedure (e.g. fosetyl, maleic hydrazide, etephon, glyphosate, glufosinate etc.) by Anastassiades et al. as well. One of the methods was dedicated for the analysis of foods of animal origin [30], while the other one for products of plant origin (fruits, dried fruits, vegetables, cereals, processed products and honey) [31].

The procedure designed for the analysis of plant-based foods starts with an acidic methanol-water extraction. Extracts were filtered through the usual 0.45 μm pore size filter, and the molecules were determined using an LC-MS-MS coupled technique. The internal standards used were pesticide molecules labelled with ^{13}C and ^{15}N nuclides. In the case of glyphosate, the 1,2- $^{13}\text{C}_2$ - ^{15}N standard was used. Sample extracts were introduced onto the Dionex IonPac AS11 (2x250 mm) analytical column through a Dionex IonPac AG11 (2x50 mm) pre-column. Separation temperature was 40 °C. The (A) component of the binary eluent was water, while the (B) component was aqueous dimethylamine solution with its pH adjusted to 11 with 1 mM citric acid. 10 and 20 μL volumes of the extracts were injected into the liquid chromatograph. The ion transitions monitored were the following: 168→63, 168→124, 168→81. In the case of ^{13}C and ^{15}N nuclide labelled internal standards, the ion transition 171→63 was monitored. Lower limits of quantification (LOQ) were validated with the analyses of tomato, gourd, apple, orange and barley samples. In their experiments, LOQ values were in the range of 0.01 mg/kg \leq LOQ \geq 0.02. Recovery and relative standard deviation data obtained during validation were not included in the paper [30].

The method without derivatization, developed for foods of animal origin, has already been tested for milk and chicken eggs so far. An aliquot of the acidic methanol-water extract used for plant samples was diluted with acetonitrile and purified on an ODS (octadecylsilane) dSPE column. The purified extract was centrifuged, filtered through a 0.45 μm pore size filter, and injected into the LC-MS-MS system. During validation of the method, a recovery of 196% and relative standard deviation of RSD=9.6% were obtained for whole milk. In the case of chicken eggs, performance characteristics were much more favorable: recovery was 117%, while the RSD value was 1.0%. The lower limit of quantification of the method was not reported by the authors [31].

3.2. Laboratory method for the determination of glyphosate residues

Several methods have been tried in our laboratory for the detection of glyphosate residues. Post-column derivatization with OPA was dismissed, because being

A glifozát és más poláros növényvédő szerek vizsgálatára egyes kutatók származékképzés nélküli módszereket is kidolgoztak. A következő, néhány idézett munka ilyen analitikai módszerekről számol be.

Shuang és munkatársai származékképzés nélküli eljárást dolgoztak ki a glifozát és bomlásterméke, az AMPA (aminometil-foszfonsav) meghatározására különböző, növényi eredetű élelmiszer-alapanyagokból. Vizsgálataikat különböző teákból, zöld datolyából, zöld szójababból és retekéből végezték. A mintákat nagy tisztaságú vízzel extrahálták, az extraktumot anion-cserélő oszlopon tisztították. A nagyhatékonyságú kromatográfias elválasztást követően electrospray ionizációt alkalmaztak. A detektálást negatív ion üzemmódú MS-MS rendszerben végezték 168→124, 81 és 63 átmenetekkel. A detektálási határ 0,01 mg/kg, az alsó mérőhatár glifozátra 0,02 mg/kg volt. A visszanyerés a mátrixtól függően 78 és 113% közötti értékek adódtak. A relatív szórás 3,2% <RSD<11,0% volt. [29].

Anastassiades és munkatársai szintén származékképzés nélküli módszereket állítottak be nagy polaritású peszticid molekulák vizsgálatára, amelyek a fentebb említett QuEChERS eljárással nem vizsgálhatók (pl. foszetil, maleinsav-hidrazid, etefon, glifozát, glufozinát stb.). Az egyik módszert az állati eredetű élelmiszerek [30], a másikat pedig a növényi eredetű termékek (gyümölcsök, szárított gyümölcsök, zöldségfélék, gabonaféleségek, feldolgozott termékek és méz) vizsgálatára dedikálták [31].

A növényi eredetű élelmiszerek vizsgálatára tervezett eljárás savas metanolos-vizes extrakcióval indul. A kivonatokat a szokásos 0,45 µm pórusméretű szűrőn szűrték és a molekulákat LC-MS-MS kapcsolt technikával határozták meg. Az alkalmazott belső sztenderdek ¹³C és ¹⁵N nuklidokkal jelölt növényvédő szer molekulák voltak. A glifozát esetében 1,2-¹³C₂¹⁵N sztenderdet alkalmaztak. A mintákból készült kivonatokat Dionex IonPac AG11 (2x50 mm) előtétoszlopon keresztül vezették a Dionex IonPac AS11 (2x250 mm) analitikai kolonnára. Az elválasztás hőmérséklete 40 °C volt. A biner mozgófázis (A)-komponense víz, (B)-komponense pedig 1 mM citromsavval 11-es pH-ra állított vizes dimetilamin oldat volt. Az extraktumokból 10 és 20 µL térfogatokat injektáltak a folyadékkromatográfiába. A figyelt ionátmenetek a 168→63, 168→124, 168→81 értékek voltak. A ¹³C és ¹⁵N nuklidokkal jelölt belső sztenderdek esetében a 171→63 ionátmenetet monitorozták. Az alsó mérőhatárokat (LOQ) paradicsom, tök, alma, narancs és árpaminták vizsgálatával validálták. Kísérleteinkben az LOQ értékei 0,01 mg/kg ≤ LOQ ≤ 0,02 mg/kg tartományba estek. A validálásnál kapott visszanyerési és relatív szórási adatokat e dolgozat nem tartalmazza [30].

Az állati eredetű élelmiszerekre kidolgozott származékképzés nélküli módszert egyelőre tejre és tyúktújra tesztelték. A növényi mintáknál használatos

savas metanolos-vizes kivonat alikvot részét acetónitriles hígítással és ODS (oktadecil-szilán) dSPE töltetű tisztították. A tisztított kivonatot centrifugálták, 0,45 µm pórusméretű szűrőn engedték át, majd az LC-MS-MS rendszerbe injektálták. A módszer validálásánál teljes tehéntejből 196% visszanyerési arányt és RSD=9,6% relatív szórást kaptak. Tyúktújás esetében ennél jóval kedvezőbbek a teljesítményjellemzők: a visszanyerés 117%-nak, az RSD-érték pedig 1,0%-nak adódott. A módszerrel elérhető alsó mérőhatárt ebben a dokumentumban nem jelölték meg a szerzők [31].

3.2. A glifozát maradékainak meghatározásának laboratóriumi módszere

Laboratóriumunkban több módszert is kipróbáltunk a glifozát maradékainak kimutatására. Az OPA-val végzett, kolonna utáni származékképzést annak körülményessége miatt elvetettük. Az FMOC-val végzett, kolonna előtti derivatizációt tartalmazó analitikai módszerekkel úgy találtuk, hogy a mintákban – a mátrixtól függően – sok olyan komponens található, amely az FMOC-val szintén származékot képez, és egyaránt zavarja a kromatográfias elválasztást és a tömegszelektív detektálást is. Anastassiades és munkatársai által kidolgozott, az Európai Unióban hivatalos módszereket [30], [31] is kipróbáltuk a glifozát maradékainak kimutatására és mennyiségi meghatározására különböző élelmiszer-alapanyagokból. A szakirodalmi forrásokból átvett módszerekkel végzett kísérleteink során szerzett tapasztalataink alapján úgy döntöttünk, hogy a WESSLING Hungary Kft. Élelmiszerbiztonsági Üzletága Laboratóriumában az irodalomban fellelhető ismeretek felhasználásával az Európai Unióban hivatalos módszert honosítjuk az erősen poláros növényvédőszer-maradékok meghatározása élelmiszerekből, élelmiszer-nyersanyagokból, növényi eredetű takarmányokból LC-MS-MS módszerrel, amelyet validálni is fogunk.

3.2.1. A glifozát maradékai meghatározásának mérési elve és alkalmazási területe

A Laboratóriumunkban kidolgozott módszer nagyon poláros, a QuEChERS módszerrel nem meghatározható peszticidek (etefon, glifozát, AMPA, glufozinát, foszetil-Al, maleinsav-hidrazid, dikvát, parakvát, klórmekvát, mepikvát, daminozid, ciromazin, perklorát, klorát) maradékainak élelmiszerekből, élelmiszer-nyersanyagokból, növényi eredetű takarmányokból való meghatározására alkalmas. A továbbiakban a glifozát kimutatásának és mennyiségi meghatározásának részleteit fogjuk ismertetni.

A mérési eljárás elve: a bemért mintában víz hozzáadásával beállítjuk az ideális víztartalmat, majd a gyomirtó szer maradékát savas metanollal extraháljuk. Az extraktumot centrifugáljuk, szűrjük, majd a szűrletből végezzük el az LC-MS-MS meghatározást.

A módszert a SANCO által kiadott általános minő-

ségbiztosítási és validálási útmutató szerint [32] a mindennapi gyakorlatra jellemző minta-mátrixokra validáltak. A zöldség- és gyümölcsféléket alma minták, az állati eredetű élelmiszereket tejminták, a gabonaféléket és száraz magvakat kölesgolyó minták elemzésével modelleztük. A módszer alkalmazását a laboratóriumban alma és tej mátrixokban ellenőriztük, valamint felhasználtuk a mérések során keletkező ún. „menet-közbeni” módszervalidálási adatokat is, melyek gabona, valamint egyéb élelmiszer minták esetében állnak rendelkezésre [33].

3.2.2. A glifozát maradványai meghatározása mérésének menete

3.2.2.1. A vizsgálathoz felhasznált eszközök és vegyszerek

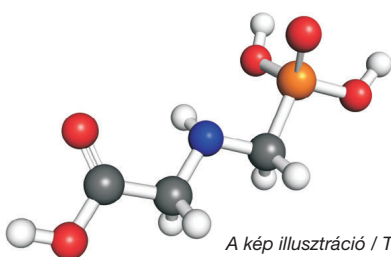
A vizsgálatokat a szokásos laboratóriumi felszerelésen túl Sciex 4500 LC-MS-MS készüléken végeztük. Az elválasztáshoz Dionex IonPac AS11-HC oszlopot alkalmaztunk. A felhasznált vegyszerek HPLC tisztaságúak voltak. A 1071-83-6 CAS számú glifozát sztenderd Sigma-Aldrich gyártmányú volt. Az izotóp-jelölt glifozát belső sztenderdet ($1,2-^{13}\text{C}_2^{15}\text{N}$, katalógusszáma: sc-280758) a Santa Cruz Biotechnology Inc.-től szereztük be. A vizsgálatokhoz használt vizet MilliQ berendezésben magunk állítottuk elő.

A glifozát sztenderdekből 1 mg/ml koncentrációjú törzsoldatokat készítettünk vízzel metanol 1:3 keverékével. A törzsoldatokból acetonitrilrel 1 µg/ml glifozát és 40 µg/ml glifozát belső sztenderd munkaoldatokat készítettünk.

A glifozát munkaoldatból 1, 5, 10, 50, 100, 250 ng/ml kalibráló oldatsort készítettünk, amely 1% hangyasavat tartalmazott metanol-víz 1:1 arányú elegyében. A kalibráló oldatsorhoz az izotóp-jelzett belső sztenderdet 100 ng/ml szinten adtuk hozzá. A kalibráló oldatokat hűtőszekrényben legfeljebb egy hétig tároltuk.

3.2.2.2. Mintaelőkészítés

A minta előkészítése során arra törekedtünk, hogy reprezentatív mintahányadok kivételére alkalmas, megfelelően homogén laboratóriumi mintát kapjunk. Zöldség és gyümölcs minták esetében magas fordulatszámon történő homogenizálást végeztünk, amelyet, szükség esetén szárazjeges darálással is kiegészítettünk. Az elkészített homogenizátumokat az analízishez úgy mértük be, hogy azok egyenként 5-5 g eredeti mintát képviseljenek.



A kép illusztráció / The picture is illustration

convoluted. With respect to analytical methods involving pre-column derivatization with FMOc, we found that there were many components in the samples – depending on the matrix – that also formed FMOc derivatives, interfering with both chromatographic separation and mass selective detection. The methods developed by Anastassiades et al. for the detection and quantification of glyphosate residues in different food raw materials, which are official methods in the European Union [30], [31] were also tried. On the basis of our experience with methods found in the scientific literature it was decided that the official method of the European Union for the determination of strongly polar pesticide residues in foods, food raw materials and plant-based feeds using LC-MS-MS would be adapted in the Laboratory of the Food Safety Business Unit of WESSLING Hungary Ltd, applying knowledge found in the literature. Validation of the method was also decided.

3.2.1. Measurement principle and application area of the determination of glyphosate residues

The method developed in our Laboratory is suitable for the determination of the residues of highly polar pesticides that cannot be determined using the QuEChERS method (etephon, glyphosate, AMPA, glufosinate, fosetyl-Al, maleic hydrazide, diquat, paraquat, chlormequat, mepiquat, daminozide, cyromazine, perchlorate, chlorate) in foods, food raw materials and plant-based feeds. Henceforward, details of the detection and quantification of glyphosate will be described.

Principle of the analytical procedure: water is added to a measured amount of the sample until the ideal water content is reached, and pesticide residues are then extracted using acidic methanol. The extract extract was centrifuged, filtered, and LC-MS-MS measurement of the filtrate is performed.

The method was validated for sample matrices typical in our everyday routine, in accordance with the general quality assurance and validation guidelines published by SANCO [32]. Fruits and vegetables were modelled by the analysis of apple samples, foods of animal origin by milk samples, and cereals and dry seeds by millet ball samples. Suitability of the method was checked in the laboratory in apple and milk matrices, and so-called „in-process” method validation data arising during measurements were also used, available in the case of cereal and other food samples [33].

3.2.2. Analytical procedure for the determination of glyphosate residues

3.2.2.1. Equipment and chemicals used for the analysis

In addition to the usual laboratory equipment, a Sciex 4500 LC-MS-MS instrument was used for the analyses. A Dionex IonPac AS11-HC column was used for the separation. Chemicals used were of HPLC grade purity. Glyphosate standard (CAS no. 1071-83-6) was obtained from Sigma-Aldrich. Isotope labeled glyphosate internal standard ($1,2-^{13}\text{C}_2^{15}\text{N}$, catalogue no.: sc-280758) was purchased from Santa Cruz Biotechnology Inc. Water used for the analyses was produced in the laboratory using a MilliQ instrument.

Stock solutions of 1 mg/ml were prepared from the glyphosate standards using a 1:3 mixture of water and methanol. 1 µg/ml and 40 µg/ml glyphosate internal standard working solutions were prepared from stock solutions using acetonitrile.

3.2.2.3. Extrakció

A homogenizált mintából kivett analitikai mintahányadokat 50 ml-es centrifugacsövekbe mértük be, amelyekhez annyi vizet adtunk, hogy a csőben az összes víz tömege 10 g legyen. A bemért mintákhoz 10 ml hangyasavas metanol oldatot mértünk (>95%-os hangyasav 100-szorosan hígítva), majd 50 µL glifozát felső sztenderd munkaoldatot adtunk hozzá. Ezt követően a lezárt centrifugacsöveket 20 percen keresztül mechanikus rázógépből rázattuk, amelyet további 10 perces ultrahangos kezeléssel egészítettünk ki.

A rázás után az extraktumot 5 percig 3500/perc fordulatszámon centrifugáltuk. Az állati eredetű minták kivonatából egy 10 ml-es centrifugacsőbe 2 ml-t vittünk át, majd 100 mg ODS (oktadecil-szilán) szorbent és 2 ml acetonitrilt adtunk hozzá. A keveréket 1 perces erőteljes rázatás után 5 percig 3500/perc fordulatszámon centrifugáltuk.

A folyadékkromatográfiás elválasztást mind a két mintatípus esetén a centrifugálás után kapott felülülő oldatból végeztük el.

3.2.2.4. Sztenderddel adalékolt minták készítése

Adalékolt (spike-olt, glifozát sztenderddel addicionált mintát) mintákat minden mérési sorozatban készítettünk az alsó mérési határ közelében (LOQ = 10 µg/kg), vagy a jelentési határ szintjén illetve egy ettől 5-10-szer magasabb szinten. Ennek szellemében az adalékolt mintákba 10 és 100 µg/kg glifozát sztenderdet mértünk be, minden esetben a víz hozzáadása előtt. A sztenderd oldat térfogatát a mintához adagolt víz térfogatából levontuk.

3.2.2.5. A minták glifozáttartalmának mérése

A méréseket Sciex 4500LC-MS-MS készülékkel végeztük electrospray ionforrással negatív ion üzemmódban. Az elválasztás Dionex IonPac AS11-HC oszlopon történt. Az oszlopra vezetett eluent és mintát az oszlop előtt 0,5 µm acélszűrőn szűrtük. Az elválasztást biner oldószerrel végeztük az **1. táblázatban** részletezett program szerint. Az ionforrásból kilépő mintaáramban 168→63, 168→79 és 168→150 átmeneteket figyeeltük.

A mérés alsó határa (LOQ) határ a legtöbb mintamátrix esetén 10 µg/kg. Az elválasztást és mennyiségi meghatározást 5 µL térfogatú tisztított mintakivonat injektálásával végeztük.

1. táblázat. A glifozát elválasztásának gradiens programja
Table 1 Gradient program for glyphosate separation

Összes idő (min) Total time (min)	Térfogatáram (µl/min) Flow rate (µl/min)	A eluens (%) Eluent A (%)	B eluens (%) Eluent B (%)
0	200	100	0
1.00	200	100	0
3.00	200	10	90
7.00	200	10	90
7.01	200	100	0
16.00	200	100	0

3.3. A glifozát maradékanyagai meghatározásának validálása

A validálás célja a nagyon poláros, QuEChERS módszerrel nem meghatározható komponensek – közöttük a glifozát maradékainak – élelmiszermintákból történő minőségi és mennyiségi meghatározására szolgáló LC-MS-MS módszer megfelelőségének igazolása. A módszer validálásánál a SANCO 2011-ben kiadott útmutató dokumentumának a módszervalidálásra vonatkozó részeit vettük alapul [34]. A glifozát és más, erősen poláros növényvédő szer-maradékok vizsgálati eljárásának részletes validálási adatait a WESSLING Hungary Kft. Élelmiszerbiztonsági Üzletága Élelmiszervizsgáló Laboratóriumának validálási jelentésében foglaltuk össze [35].

A SANCO dokumentum [34] „A” mellékletének 3. és 4. pontja értelmében felhasználtuk a mérések során keletkező folyamatos, az angol terminológiában ún.

„on-going” módszervalidálási adatokat is, melyek gabona minták esetében állnak rendelkezésre. Az „on-going” validálási eljárásban olyan mátrixban vizsgáltuk a visszanyerés (R%), illetve az ismételtetés (RSD%) értékeit, amelyek eltértek a validálási eljárás során tesztelt mátrixtól. Ilyen módon köles mintában igazoltuk, hogy a módszerben történt minimális változtatások nem befolyásolják jelentősen a módszer teljesítőképességét hosszabb időtartam alatt sem.

Tipikusan, minden mérési sorozatban legalább egy adalékolt mintát is készítettünk, melyeket az éles mintákkal egy időben és azonos módon vizsgáltunk.

A glifozát sztenderdből a következő koncentrációtartományban készítettünk kalibráló oldatsort: 1, 5, 10, 50, 100, 250 ng/ml 1% hangyasavat tartalmazó metanol-víz = 1:1 arányú elegyből készült oldószerben. A kalibráló oldatsorhoz jelzett belső sztenderdet adtunk 100 ng/ml szinten.

A calibration solution set with concentrations of 1, 5, 10, 50, 100 and 250 ng/ml in methanol-water mixture (1:1) containing 1% formic acid was prepared from the glyphosate working solutions. Isotope labeled internal standard was added to the calibration solution set at the 100 ng/ml level. Calibration solutions were stored in a refrigerator for no more than one week.

3.2.2.2. Sample preparation

During sample preparation, efforts were made to obtain laboratory samples that are suitably homogeneous and adequate for taking representative sample fractions. In the case of fruit and vegetable samples, high rpm homogenization was performed, supplemented by dry ice grinding, if necessary. Homogenates thus prepared were weighed in so that they would represent 5 g of the original sample.

3.2.2.3. Extraction

Analytical sample fractions of the homogenized sample were weighed into 50 ml centrifuge tubes, and water was added for a total water mass of 10 g. 10 ml of formic acid solution in methanol (>95% formic acid diluted 100-fold) was added to the sample, followed by 50 µL glyphosate internal standard working solution. The sealed centrifuge tubes were then shaken on a mechanical shaker for 20 minutes, followed by a 10-minute ultrasonic treatment.

After shaking, extracts were centrifuged for 5 minutes at 3500 rpm. In the case of samples of animal origin, 2 ml of the extract was transferred into a 10 ml centrifuge tube, and 100 mg ODS (octadecylsilane) sorbent and 2 ml of acetonitrile were added. After vigorous shaking for 1 minute, the mixture was centrifuged for 5 minutes at 3500 rpm.

For both sample types, liquid chromatographic separation was performed on the supernatant obtained after centrifuging.

3.2.2.4. Preparation of samples spiked with standard

Spiked samples (added with glyphosate standard) were prepared in each analytical sequence either in the vicinity of the limit of quantification (LOQ = 10 µg/kg), at the level of the reporting limit, or at a level 5 to 10-fold higher. In this spirit, 10 and 100 µg/kg glyphosate standard was added to prepare spiked samples, in each case before the addition of water. The volume of the standard solution was subtracted from the volume of water added to the sample.

3.2.2.5. Measuring the glyphosate content of the samples

Analyses were performed on a Sciex 4500LC-MS-MS instrument with an electrospray ion source in negative ion mode. Separation was performed on a Dionex IonPac AS11-HC column. The eluent introduced onto the column and the sample were filtered before the column through a 0.5 µm steel filter. Separation was performed using a binary solvent mixture and the gradient program shown in **Table 1**. 168→63, 168→79 and 168→150 transitions were monitored in the sample current exiting the ion source.

The lower limit of quantification (LOQ) was 10 µg/kg for most sample matrices. Separation and quantification were performed by the injection of 5 µL of purified sample extract.

3.3. Validation of glyphosate residue determination

The purpose of validation was to verify the suitability of the LC-MS-MS method for the qualitative and quantitative determination of strongly polar components that cannot be analyzed by the QuEChERS method – among them, glyphosate residues – in food samples. When performing the validation, relevant parts for method validation of the

guidance document issued by SANCO in 2011 were taken into consideration [34]. Detailed validation data of the analytical procedure of glyphosate and other strongly polar pesticide residues are summarized in the validation report of the Food Testing Laboratory of the Food Safety Business Unit of WESSLING Hungary Kft. [35].

In accordance with Sections 3 and 4 of Appendix A of the SANCO document [34], on-going method validation data arising during the analyses that were available for cereal samples. In the on-going validation procedure, recovery (R%) and repeatability (RSD%) values were analyzed for a matrix that was different from the matrix tested during the validation procedure. Thus, it was verified in a millet sample that the performance of the method was not significantly affected by minimal changes in the method, even in the long term.

Typically, at least one spiked sample was prepared in each analytical sequence, and it was analyzed at the same time and in the same way as real samples.

A calibration solution set of the following concentrations was prepared from the glyphosate standard: 1, 5, 10, 50, 100, 250 ng/ml in a mixture of methanol-water = 1:1 containing 1% of formic acid. Internal standard was added to the calibration solutions at the 100 ng/ml level.

3.3.1. Identification of glyphosate

The molecular structure of glyphosate is shown in **Figure 3**. Molecular formula: C₃H₈NO₅P.

The molecular mass of glyphosate (N-(phosphonomethyl) glycine) is 169. CAS no.: 1071-83-6. Retention time of the molecule under the conditions described in Section 3.2.2.5 is between 8.5 and 10 minutes. The compound was identified in the LC-MS-MS system by monitoring the 168→63, 168→79 and 168→150 transitions. Identification was confirmed by the analysis of isotope labeled internal standard.

3.2.2. Linearity analysis of the calibration curve

Linearity of the calibration curve of glyphosate was checked at concentrations of 1, 2, 5, 10, 50, 100 and 240 ng/ml using the internal standard method. The calibration curve shown in **Figure 4** was found to be linear in the 1 to 250 ng/m range. The correlation coefficient of the regression line was R²=0,999.

3.3.3 Determination of the lower limit of quantification (LOQ)

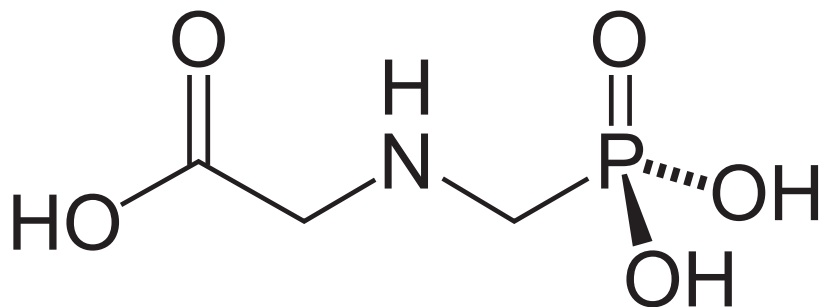
To determine the LOQ, it was checked whether the signal-to-noise ratio is acceptable at the intended reporting limit of glyphosate – in the case of a concentration of 10 µg/kg – when performing the analysis using the method adapted by us. To verify this, chromatograms of a 10 ng/ml glyphosate standard and a 200 ng/ml isotope labeled glyphosate internal standard are shown in **Figure 5**.

To verify that the intended quantification limit was set at the proper level, recovery was determined with the analysis of samples spiked at the intended LOQ=10 µg/kg level, and then it was tested whether the value obtained satisfied acceptability criteria. According to the guidelines of the SANCO document cited above [34], recovery has to be in the 70-120% range, and the relative standard deviation (RSD) cannot exceed 20%.

As shown in **Figure 6**, the analytical signal of the 10 ng/ml glyphosate standard is 12300 area units, peak height is 1740 cps, which exceeds many times the noise surrounding the glyphosate peak. Recovery (R=79,8%) and relative standard deviation (RSD≤20%) values of the analysis performed

3.3.1. A glifozát azonosítása

A glifozát molekulá szerkezetét a **3. ábrán** mutatjuk be. Összegképlete: $C_3H_8NO_5P$.

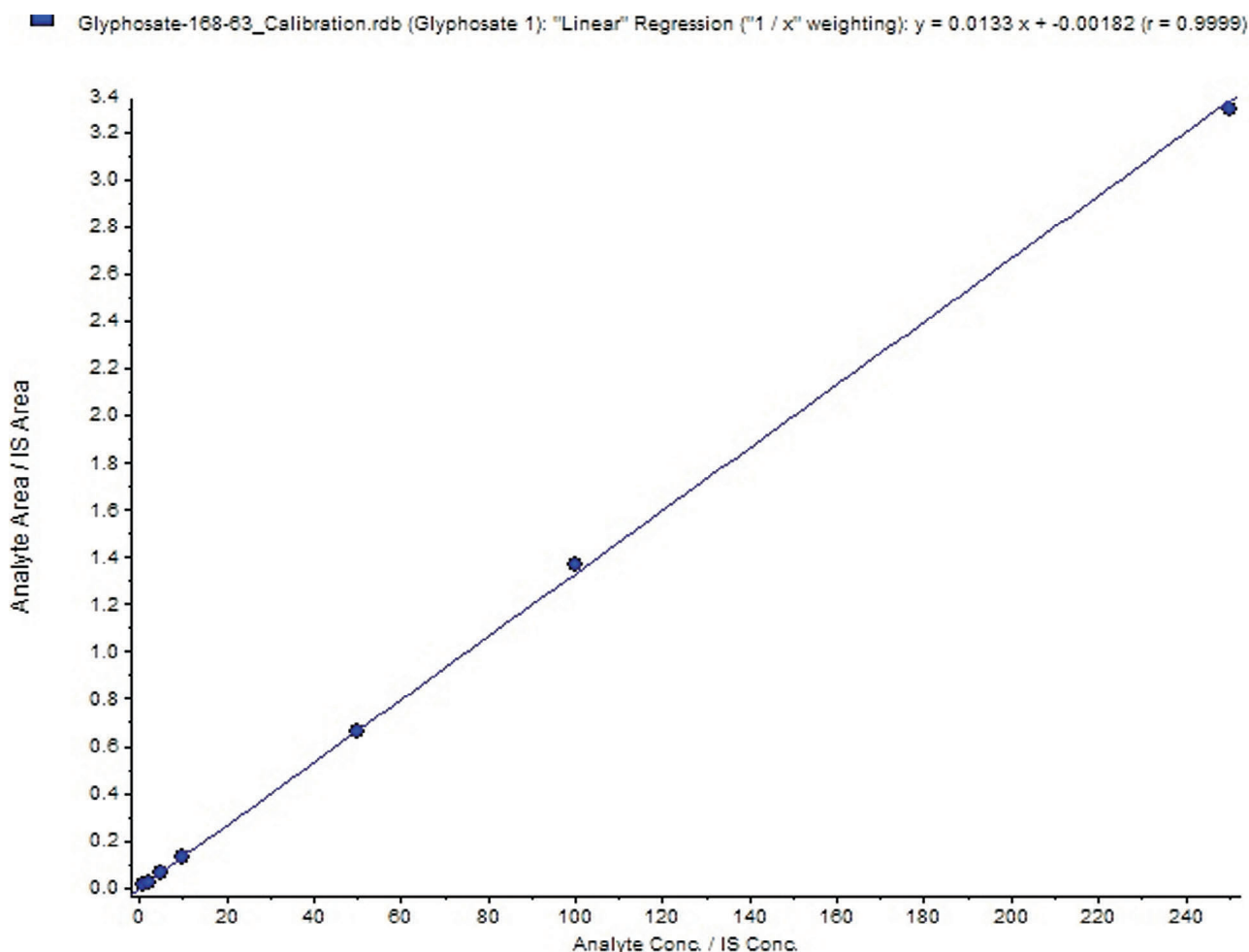


3. ábra A glifozát molekulá szerkezte
Figure 3 The molecular structure of glyphosate

A glifozát (N-(foszfometil)-glicin) molekulatömege 169. CAS száma: 1071-83-6. A molekula retenciósi ideje a 3.2.2.5. szakaszban ismertetett elválasztási körülmények között 8,5 és 10 perc közé esik. A vegyület azonosítását az LC-MS-MS rendszerben a 168→63, 168→79 és 168→150 átmenetek figyélésével végeztük. Az azonosítást izotópjelzett belső sztenderd vizsgálatával erősítettük meg.

3.3.2. A mérőgörbe linearitásának vizsgálata

A glifozát mérőgörbéjének linearitását belső sztenderd módszerrel 1, 2, 5, 10, 50, 100 és 250 ng/ml koncentrációjú pontokon ellenőriztük. A **4. ábrán** látható mérőgörbét 1 és 250 ng/ml tartományban találtuk lineárisnak. A regressziós egyenesre $R^2=0,999$ értéket kaptunk.



4. ábra A glifozát kalibrációs görbéje 1-250 ng/ml tartományban
Figure 4 The calibration curve of glyphosate in the range of 1-250 ng/ml

using the method adapted by us satisfied the requirements set forth in the relevant guideline of SANCO. In **Figure 6** the chromatogram of a sample negative for glyphosate is shown after spiking with 10 ng/ml standard, together with the chromatogram of the internal standard.

3.3.4. Checking the specificity of the analytical method of glyphosate

When testing specificity, it was checked whether there were interfering peaks exceeding 30% of the LOD concentration in the chromatogram of the method blind sample near the retention time of glyphosate. LC-MS-MS chromatogram recorded at the first transition of glyphosate (168→63) is shown in **Figure 7**, together with the usual internal standard chromatogram.

It is indicated in **Figure 7** that near the retention time of glyphosate (8.5-10 minutes) the size of the largest interfering signal is 32.4 area units, and the peak height is 71.4 cps. Considering the signal ratio of the interfering peak to the 10 ng/ml concentration of glyphosate (**Figure 5**, 1740/71,4≈24), the interference is negligible. Thus, our method can be considered specific for glyphosate.

3.3.5. Checking repeatability, accuracy and recovery

During this control procedure, overall repeatability of the complete analytical procedure (sample preparation and instrumental analysis) was tested. For this control, spiking was performed at two concentration levels, according to the SANCO guideline document [34]. The concentration of one of the spiked samples was adjusted to the intended reporting limit – in our case, 10 µg/kg –, and of the other sample, to the 100 µg/kg level. According to the recommendation, the expected recovery of the complete analytical procedure, i.e. the accuracy of the method has to be in the 70% – 120% range again, and the relative standard deviation (RSD) of the method cannot exceed 20% in this case either. Result of the control measurements are summarized in **Table 2**.

According to the data listed in **Table 2**, the average recovery characteristic of the method is R=79.4 %, which is in the required 70% – 120 % range. The relative standard deviation at the 10 and 100 µg/kg levels, calculated from the average total recovery is RSD=12.6%, i.e. lower than the expected 20%. Thus, repeatability and accuracy of our method was deemed satisfactory.

To check the performance of our method, concurrently with the validation series, a potato sample of a proficiency testing scheme was also prepared and analyzed. In the proficiency testing report summarizing proficiency testing results, our results corresponded to a z-score of -0.71. Based on this, the performance of our method was deemed satisfactory.

4. Analytical results

Since the accreditation procedure of the method described in Chapter 3, cereal, milk, sunflower and oil samples have been analyzed in our Laboratory. Henceforward, analytical results of cereal samples (mainly bio-products), analyzed in the largest numbers, are presented graphically in **Figure 8**. For easier viewing, a logarithmic scale was applied on the y-axis of the diagram, therefore, analytical results below the LOQ (<10 µg/kg) are shown on the line with the value „1”. Values obtained are listed in increasing order.

According to **Figure 8**, our endeavor to set up an easy to use, validated glyphosate analytical method in our Laboratory for routine application was well-founded. Of the 35 cereal samples received in the first quarter of 2014, only 3 samples were not marked as „organic”. These are indicated

in **Figure 8** by purple color. At the same time, of the 32 „organic” cereals, glyphosate contents exceeding the 10 µg/kg lower limit of quantification were found in 15 samples, indicated by dark green columns in **Figure 8**. These constitute 46.9% of the „organic” cereal samples.

Analytical results of other samples analyzed in the first quarter of 2014 – mainly „organic” sunflower – are represented graphically in **Figure 9**. Data for „organic” products are indicated by dark blue color this time, to differentiate them from the analytical results of not „organic” labeled products, shown in orange color. Scaling and layout of the figure is similar to those of **Figure 8**.

Figure 9 contains the analytical results of twenty other, honey, bio sunflower, cow’s milk, potato, strawberry leaf and flour samples, including 12 „organic” products. Of the products bearing the „organic” mark, glyphosate exceeding the lower limit of quantification (LOQ=10 µg/kg) was detected in 7 samples. These constitute 58.23% of the „organic” products.

5. Conclusions

Because of the continuous increase in the acreage of glyphosate-tolerant, genetically modified organisms, it is justified to monitor closely the presence of this herbicide in the environment and the food chain, with special attention paid to the suspected environmental hazards of the molecule.

Based on literature publications, a well applicable LC-MS-MS method characterized by favorable repeatability and recovery was developed and successfully validated in our Laboratory, mainly for the analysis of foods of plant and animal origin, and of agricultural products.

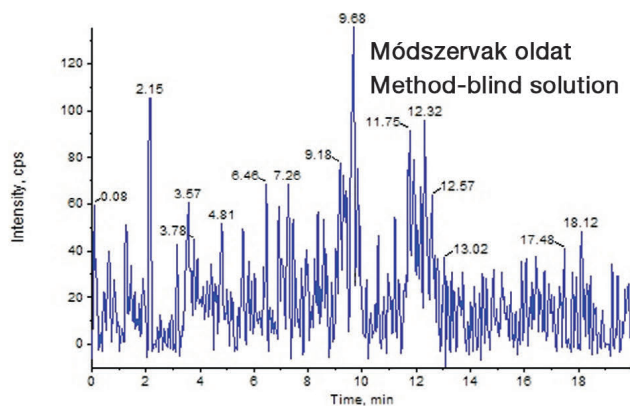
Using our method, determination of the glyphosate content of 55 samples, mainly bearing the „organic” label, was performed in the first quarter of 2014. Glyphosate residue contents exceeding the 10 µg/kg lower limit of quantification (LOQ) were detected on 49% of the samples. This rate for products bearing the „organic” label is exactly 50%. Here, we would like to recall the results of a survey performed in Germany in 2013 [19], during which residues of this active ingredient were detected in urine samples of people from EU member states at a 44% frequency.

It seems that residues of herbicides, containing glyphosate as active ingredient, do not decompose in the environment as fast as it was thought earlier by professionals. Thus, warning publications, including the summary of Smith [36], are justified to state that, due to unlimited application of glyphosate, the compound can appear in matrices where its presence was thought to be unlikely. In our case, such matrices are human urine samples and agricultural products bearing the „organic” label.

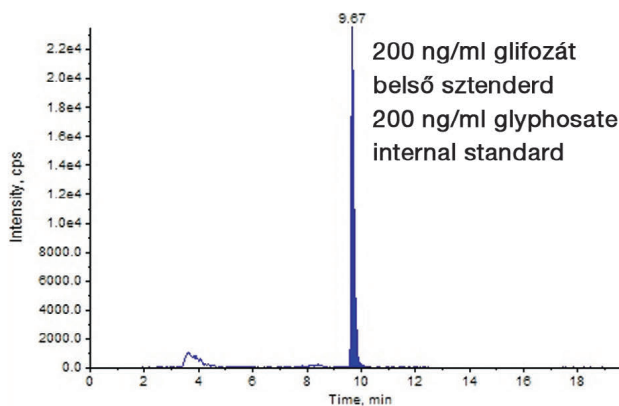
6. Acknowledgement

We would like to thank the employees of the Food Testing Laboratory of the Food Safety Business Unit of WESSLING Hungary Ltd, especially Kitti Tóth and András Varga for their tenacious work resulting in the validated and accredited method for the determination of glyphosate which has now become a tool in our daily routine. We express our thanks to Gábor Szunyogh for proofreading our manuscript.

T_2 - Glyphosate 1 (Unknown) 168.000/63.000 Da - sample 21 of 29 from 140210-Gly...
Area: 32.4 counts Height: 71.4 cps RT: 9.73 min



T_2 - Glyphosate-13C2-15N(1S) (Unknown) 171.000/63.000 Da - sample 21 of 29 from 140210-G...
Area: 190000. counts Height: 23900. cps RT: 9.67 min



7. ábra A glifozát retenció idejének közelében észlelhető zavaró hatású jelek kromatogramja
Figure 7 Chromatogram of interfering effects close to the retention time of glyphosate

A **7. ábráról** leolvasható, hogy a glifozát retenció idejének közelében (9-10 perc) a legnagyobb zavaró jel nagysága 32,4 területegység, csúcsmagassága pedig 71,4 cps. A zavaró csúcs és a glifozát 10 ng/ml-es koncentrációja jelének (**5. ábra**) arányát (1740/71,4≈24) tekintve a zavaró hatás elhanyagolható. Módszerünk így, glifozátra nézve specifikusnak tekinthető.

3.3.5. Az ismételhetőség, torzítás és visszanyerések ellenőrzése

Ennél az ellenőrzés folyamatnál a teljes analitikai fo-

lyamat (mintaelőkészítés és műszeres mérés) együttes reprodukálhatóságának vizsgálatát végeztük el. Az ellenőrzéshez az adalékolást a SANCO útmutató dokumentuma [34] szerint két koncentrációsinten végeztük el. Az egyik adalékolt minta koncentrációját a tervezett jelentési határra – esetünkben 10 µg/kg-ra –, a másikat 100 µg/kg szintre állítottuk be. Az ajánlás szerint a teljes analitikai folyamat elvart visszanyerése, azaz a módszer torzítása szintén a 70% – 120% tartományba kell, hogy essék, s a teljes módszer relatív szórása (RSD) ebben az esetben sem haladhatja meg a 20%-ot. Az ellenőrző mérések eredményeit a **2. táblázatban** foglaltuk össze.

2. táblázat A glifozát teljes analitikai eljárásának visszanyerési és ismételhetőségi adatai
Table 2 Recovery and repeatability data of whole analytical procedure of glyphosate

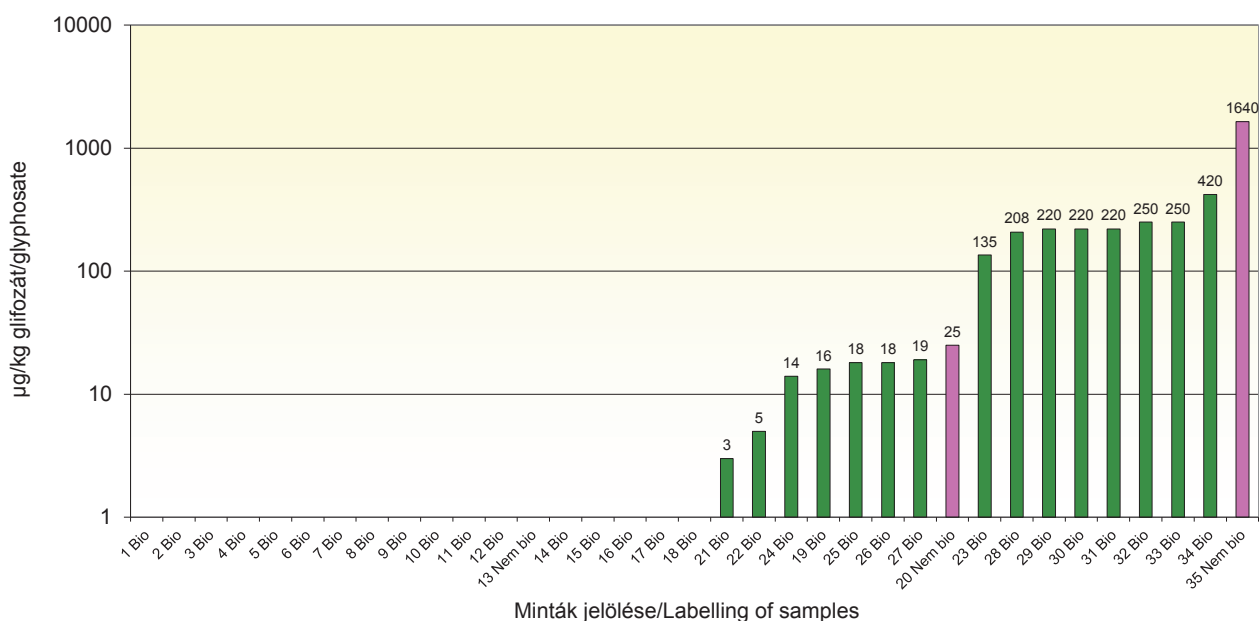
Ismétlések +10 µg/kg Replicates +10 µg/kg	Az adalékolt minta neve ID of spiked sample	Mért koncentráció µg/kg Measured concentration µg/kg	Visszanyerés (%) Recovery (%)	Középérték Average	Szórás (SD) Standard deviation (SD)	Relatív szórás (RSD) Relative standard deviation (RSD)
1 _{10 µg/kg}	alma_sp10_1	6,9	69,0	79,8	11,96	14,98
2 _{10 µg/kg}	alma_sp10_2	7,8	78,1			
3 _{10 µg/kg}	alma_sp10_3	9,5	94,8			
4 _{10 µg/kg}	alma_sp10_4	8,9	89,2			
5 _{10 µg/kg}	alma_sp10_5	6,8	68,0			
Ismétlések +100 µg/kg Replicates +100 µg/kg	Az adalékolt minta neve ID of spiked sample	Mért koncentráció µg/kg Measured concentration µg/kg	Visszanyerés (%) Recovery (%)	Középérték Average	Szórás (SD) Standard deviation (SD)	Relatív szórás (RSD) Relative standard deviation (RSD)
1 _{100 µg/kg}	alma_sp100_1	70,6	70,6	79,0	8,96	11,35
2 _{100 µg/kg}	alma_sp100_2	79,4	79,4			
3 _{100 µg/kg}	alma_sp100_3	94,0	94,0			
4 _{100 µg/kg}	alma_sp100_4	75,1	75,1			
5 _{100 µg/kg}	alma_sp100_5	75,8	75,8			

A **2. táblázat** adatainak tanúsága szerint a módszerre jellemző átlagos visszanyerés $R=79,4\%$, amely a megkövetelt $70\% - 120\%$ tartományba esik. Az összes visszanyerés átlagából számolt relatív szórás 10 és $100\ \mu\text{g}/\text{kg}$ szinten $RSD=12,6\%$, azaz kisebb, mint az elvárt 20% . Így módszerünk ismételhetőségét, valamint torzítatlanságát megfelelőnek ítéltük.

Módszerünk teljesítőképességének ellenőrzéséhez a validálási sorozattal egy időközben egy burgonya körvizsgálati mintát is előkészítettünk, illetve megmértünk. Az összesített körvizsgálati értékelés alapján a visszakapott körvizsgálati jelentésben eredményeink a $-0,71$ z-score-értéknek feleltek meg. Mindezek alapján módszerünk teljesítőképességét megfelelőnek ítéltük.

4. Mérési eredmények

Laboratóriumunkban a 3. fejezetben ismertetett módszer akkreditálási eljárása óta gabona-, tej-, napraforgó- és olajminták vizsgálatára került sor. A továbbiakban a legnagyobb számban vizsgált gabonaminták – közöttük túlnyomóan bio-termékek – vizsgálati eredményeit a **8. ábrán** mutatjuk be grafikusán. A diagram ordináta tengelyén a jobb áttekinthetőség kedvéért logaritmikus skálát alkalmaztunk, ezért az LOQ ($<10\ \mu\text{g}/\text{kg}$) alatti mérési eredmények az „1”-es értékek vonalán láthatók. A mért értékeket az ábrán növekvő sorrendben vettük fel.



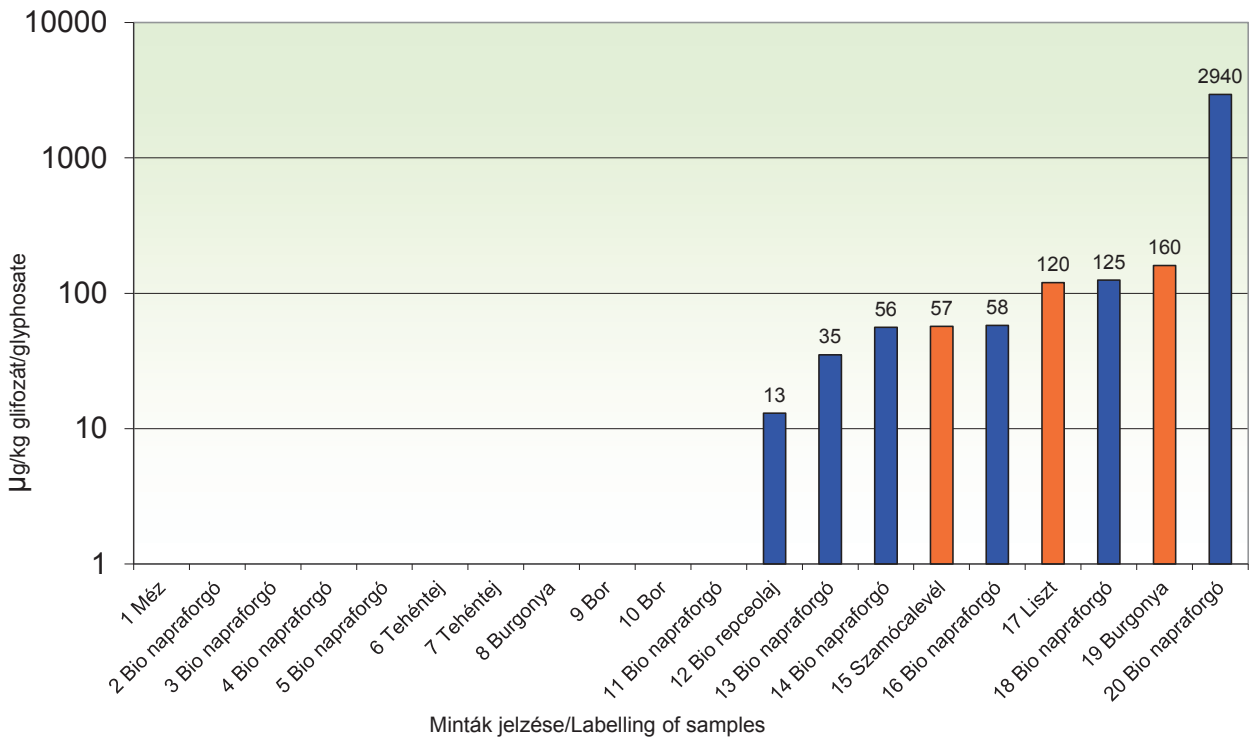
8. ábra Gabonaminták glifozáttartalmának mérési eredményei
Figure 8 Measurement results of grain samples (bio = organic)

A **8. ábra** tanúsága szerint törekvésünk megalapozott volt, hogy egy jól használható, validált glifozát-meghatározási módszert állítsunk be Laboratóriumunkban rutin alkalmazás céljaira. A 2014. év I. negyedévében kapott 35 db gabonamintából mindössze 3 db minta nem viselte a „bio” jelzést. Ezeket a

mintákat a **8. ábrán** lila színnel jelöltük. Ugyanakkor a 32 db „bio” gabonából a **8. ábrán** sötétzöld oszlopokkal jelzett 15 mintánál mutattunk ki a $10\ \mu\text{g}/\text{kg}$ -os alsó méréshatár feletti glifozáttartalmat. Ez a „bio” gabonaminták $46,9\%$ -át teszi ki.



A kép illusztráció / The picture is illustration



9. ábra Egyéb minták glifozáttartalmának mérési eredményei
Figure 9 Measurement results of other samples (bio = organic)

A **9. ábrán** a 2014. év I. negyedévében vizsgált egyéb minták – többségükben „bio” napraforgó – vizsgálati eredményeit mutatjuk be grafikus formában. A „bio” termékek adatait ezúttal **sötétkék** színnel jelöltük, amelyektől a „bio” jelzést nem viselő termékek vizsgálati eredményeit **narancsvörös** színnel különböztettük meg. Az ábra skálázására és elrendezésére a **8. ábránál** leírtak az irányadók.

A **9. ábra** húsz egyéb, méz-, bio napraforgó-, tehéntej-, burgonya-, szamócalevél-, valamint lisztminta vizsgálati eredményeit, közöttük 12 „bio” termék tartalmazza. A „bio” jelölést viselő termékek közül 7 mintában mutatunk ki glifozáttartalmat a mérés alsó határa (LOQ=10 µg/kg) felett. Ez a „bio” termékek 58,3%-át tette ki.

5. Következtetések

A glifozátra toleráns, genetikailag módosított növények vetésterületének folyamatos növekedése miatt indokolt a gyomirtó hatóanyag környezetben és az élelmiszerláncban való jelenlétének gondos felügyelete, különös tekintettel a molekula gyanítható környezeti veszélyeire.

Laboratóriumunkban a szakirodalomban található közlemények tanulságai alapján sikerült egy jól alkalmazható, kedvező ismételtelőséggel, visszanyeréssel jellemezhető LC-MS-MS módszert honosítani és sikerrel validálni, elsősorban növényi és állati eredetű élelmiszerekből, mezőgazdasági termékekből.

Módszerünkkel 2014. I. negyedévében 55 db, közöttük túlnyomóan „bio” jelölést viselő minta glifozáttartalmá-

nak meghatározását végeztük el. A glifozát maradványait az összes minta 49%-ban sikerült a 10 µg/kg alsó mérési határ (LOQ) feletti mennyiségben kimutatnunk. Ez az arány csak a „bio” jelölést viselő termékekre éppen 50%. Itt emlékeztetünk a 2013. évben végzett németországi felmérés eredményeire [19], aminek során az EU tagországokból származó emberek vizeletmintáiban 44%-os gyakorisággal mutatták ki a hatóanyag maradványait.

Úgy tűnik, hogy a glifozát hatóanyagú gyomirtó szerek a környezetbe való kijuttatása után annak maradványai nem olyan ütemben bomlanak le, mint azt a szakemberek a korábbi években gondolták. Megalapozott tehát a számos figyelmeztető közlemény, közöttük a Smith összefoglaló munkájában leírtak [36] ami szerint a glifozát csaknem korlátok nélküli felhasználása révén a vegyület olyan mátrixokban is megjelenhet, ahol elvileg nem valószínű a jelenléte. Esetünkben ilyen mátrixok a humán vizeletminták és a „bio” jelölést viselő mezőgazdasági termékek.

6. Köszönetnyilvánítás

Köszönetünket fejezzük ki a WESSLING Hungary Kft. Élelmiszerbiztonsági Üzletága Élelmiszeranalitikai Laboratóriuma dolgozóinak, különösen Tóth Kitti-nek és Varga Andrásnak azért a kitaró munkáért, amelyek eredményeképpen a glifozát validált és akkreditált vizsgálati módszere elkészült és a napi rutin munkánk eszközévé válhatott. Köszönetünket fejezzük ki Szunyogh Gábornak, aki kéziratunk nyelvhelyességét ellenőrizte.

7. Irodalom / References

- [1] Nádasy M. (1979): Növényvédő-szer kémia. Vezérfonal az előadások feldolgozására. II. átdolgozott és bővített kiadás. Agrártudományi Egyetem, Keszthely, Keszthelyi Mezőgazdaság-tudományi Kar. pp. 65
- [2] Nádasy M. (1979): Növényvédő-szer kémia. Vezérfonal az előadások feldolgozására. II. átdolgozott és bővített kiadás. Agrártudományi Egyetem, Keszthely, Keszthelyi Mezőgazdaság-tudományi Kar. pp. 130
- [3] Franz, J. E.; Mao, M. K.; Sikorski, J. A. (1977): Glyphosate: A Unique Global Herbicide; American Chemical Society: Washington, DC, Ch. 2
- [4] Isenring, R. (2004): Glyphosate. Pesticides News No. 64, 2004, p. 20-21
- [5] Woodburn, Allan T. (2000): Glyphosate: Production, Pricing and use Worldwide. Pest Manag Sci 56: 309–312
- [6] Friends of the Earth Europe (2013): Introducing Glyphosate, the World's Biggest Selling Herbicide, June, 2013
- [7] GMO Compass (2014): Genetically modified plants: Global cultivation on 174 million hectares. http://www.gmo-compass.org/eng/agri_biotechnology/gmo_planting/257.global_gm_planting_2013.html (Hozzáférés: 2014. 04. 23/Accessed: April 23, 2014)
- [8] GMO Compass (2014): Genetically modified plants: Global cultivation on 174 million hectares. http://www.gmo-compass.org/eng/agri_biotechnology/gmo_planting/342.genetically_modified_soybean_global_area_under_cultivation.html (Hozzáférés: 2014. 04. 23/Accessed: 23.04.2014)
- [9] Lee, L., J., Ngim, J. (2000): A First Report of Glyphosate-resistant Goosegrass (*Eleusine indica* (L) Gaertn) in Malaysia. Pest Manag Sci 56 p. 336-339.
- [10] Follings, J., Soltani, N., Robinson, D. E., Tardif, F. J., Lawton, M. B., Sikkema, P. H. (2013): Control of glyphosate resistant giant ragweed in soybean with preplant herbicides. Agricultural Sciences 4 (2013) p. 195-205
- [11] Darvas B., Fejes Á., Mörtl M., Bokán K., Bánáti H., Fekete G., Székács A. (2011): A glyphosate alkalmazásának környezetegészségügyi problémái. Növényvédelem 47 (9) p. 387-401
- [12] Robin Marie-Monique (2009): A Monsanto szerint a világ. Pallas Kiadó Kft. Budapest, 2009. pp. 89. A magyar fordítás alapjául szolgáló kiadás: Marie-Monique Robin: Le monde selon Monsanto. Éditions La Découverte/ARTE Éditions, Paris, 2008
- [13] Darvas B. (2011): A GM-növények mellékhatásai. Magyar Mezőgazdaság 2011. október 5. 28–30
- [14] Howe Ch. et al. (2002): The Acute and Chronic Toxicity of Glyphosate-Based Pesticides in Northern Leopard Frogs. Michael Berrill's Research, Amphibian Ecology And Pathobiology. http://www.trentu.ca/biology/berrill/Research/Roundup_Poster.htm Hozzáférés/Accessed: July 08, 2013
- [15] Darvas B. (2011): A glyphosate alkalmazásának környezet-egészségügyi problémái. Növényvédelem 47 (9), 2011
- [16] Schmidt, A. L. (2003): Poisonous Spray [Roundup] on a Course Towards Drinking Water. Politken, Denmark, May 10, 2003 <http://www.gene.ch/genet/2003/Jul/msg00072.html> (Hozzáférés/Accessed: August 11, 2014)
- [17] Lappe, M. A., et al. (1999): Alteration In Clinically Important Phytoestrogens In Genetically Modified, Herbicide-Tolerant Soybeans. Journal of Medicinal Food 1 (4) p. 241-245
- [18] Fernandez M. R. et al. (2005): Crop Production Factors Associated with Fusarium Head Blight in Spring Wheat in Eastern Saskatchewan. Crop Science, 45 p. 1908-1916
- [19] Hoppe H-W. (2013): Determination Of Glyphosate Residues In Human Urine Samples From 18 European Countries. Medical Laboratory Bremen, Haferwende 12, 28357 Bremen, Germany. Date of the Document June 12, 2013, pp. 1-13
- [20] Winfield, T.W., Bashe, W.J., Baker T.V. (1990): Determination of Glyphosate in Drinking Water by Direct-Aqueous-Injection HPLC, Post-Column Derivatization, and Fluorescence Detection. Environmental Monitoring Systems Laboratory Office of Research and Development U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio 45268. EPA Method 547. p. 1-16
- [21] AOAC (1998): Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid (AMPA) in Environmental Water by Liquid Chromatographic Method. AOAC Test Method 991.08. Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th Edition, 4th Revision, 1998 Volume I
- [22] Monsanto (2004): Analytical Method for Glyphosate and AMPA in Raw Agricultural Commodities and their Processed Commodities. Monsanto Company Standard Operating Procedure. ES-ME-1025-01. p. 1-31
- [23] Alferness, Pl., Wiebe, La, (2001): Determination of Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid in Crops by Capillary Gas Chromatography With Mass-Selective Detection Collaborative Study. Journal of AOAC International 84 (3) p. 823-846
- [24] Luetjohann, J., Bammann, S., Neubauer, S., Schreiber, F., Jantzen, E., Kuballa, J. (2012): Developments of Pesticide SRMs. Poster presentation. 9th European Pesticide Residue Workshop, June, 25-28, 2012, Vienna
- [25] Vreeken, R.J., Speksnijder, P., Bobeldijk-Pastorova, I., Noij, Th.H.M. (1998): Selective Analysis of the Herbicides Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid in Water By On-line Solid-phase Extraction-High-Performance Liquid Chromatography-Electrospray Ionization Mass Spectrometry. Journal of Chromatography A, 794 p.187–199
- [26] Lee, E. A., Strahan, A.P., Thurman, E.M. (2002): Methods of Analysis by the U.S. Geological Survey Organic Geochemistry Research Group—Determination of Glyphosate, Aminomethylphosphonic Acid, and Glufosinate in Water Using Online Solid-Phase Extraction and High-Performance Liquid Chromatography/Mass Spectrometry. U.S. Department of the Interior U.S. Geological Survey. Open-File Report 01–454. pp. 1-18
- [27] Ibáñez, M., Pozo, Ó. J., Sancho, J.V., López, F.J., Hernández, F. (2005): Residue Determination of Glyphosate, Glufosinate and Aminomethylphosphonic Acid in Water And Soil Samples By Liquid Chromatography

matography Coupled To Electrospray Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1081 p.145–155

[28] Le Fur, E., Colin, R., Charrêteur, C., Dufau, C., Péron, J.-J. (2000): Determination of Glyphosate Herbicide and Aminomethylphosphonic Acid in Natural Waters By Liquid Chromatography Using Pre-column Fluorogenic Labeling. Part I: Direct Determination at the 0.1 mg/L level using FMOG

[29] Shouang, Z., Du/Ming, X., Li-yi, L., Lu-ping, C., Yu, Z., Li-zhong, J. (2013) : Determination of Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid in Plant-derived Foodstuffs by Aqueous Normal Phase (ANP) Chromatography -Tandem Mass Spectrometric Method. *Journal of Instrumental Analysis* 32 2. p. 199-204

[30] Anastassiades, M., ; Kolberg, D. I., Mack, D., Barth, A., Wildgrube, Chr., Roux, D. (2013): Quick Method for the Analysis of Residues of Numerous Highly Polar Pesticides in Food Commodities Involving Simultaneous Extraction with Methanol and Determination via LC-MS-MS (QuPPE-AO-Method). EU Reference Laboratory for Pesticides Requiring Single Residue Methods (EURL-SRM). CVUA Stuttgart, Schaflandstr. 3/2, DE-70736 Fellbach, Germany. p. 1-44

[31] Anastassiades, M., ; Kolberg, D. I., Mack, D., Barth, A., Wildgrube, Chr., Roux, D. (2013): Quick Method for the Analysis of Residues of Numerous Highly Polar Pesticides in Food Commodities Involving Simultaneous Extraction with Methanol and Determination via LC-MS-MS (QuPPE-AO-Method). II. Food of Animal Origin. EU Reference Laboratory for Pesticides Requiring Single Residue Methods (EURL-SRM). CVUA Stuttgart, Schaflandstr. 3/2, DE-70736 Fellbach, Germany. p. 1-15

[32] SANCO (2013): Guidance Document on Analytical Quality Control and Validation Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed. European Commission

Health & Consumer Protection Directorate General, Safety of the Food Chain Chemicals, Contaminants, Pesticides. SANCO/12571/2013. 19 November 2013 Rev. 0. Implemented by 01/01/2014. p. 1-48

http://www.eurl-pesticides.eu/library/docs/allcrl/AqcGuidance_Sanco_2013_12571.pdf (Hozzáférés: 2014.08.28./Accessed: August 28, 2014)

[33] Wessling SOP (2014): Erősen poláros növényvédőszer-maradékok meghatározása élelmiszerekből, élelmiszer-nyersanyagokból, növényi eredetű takarmányokból LC-MS-MS módszerrel. SOP-6215-03. p. 1-18

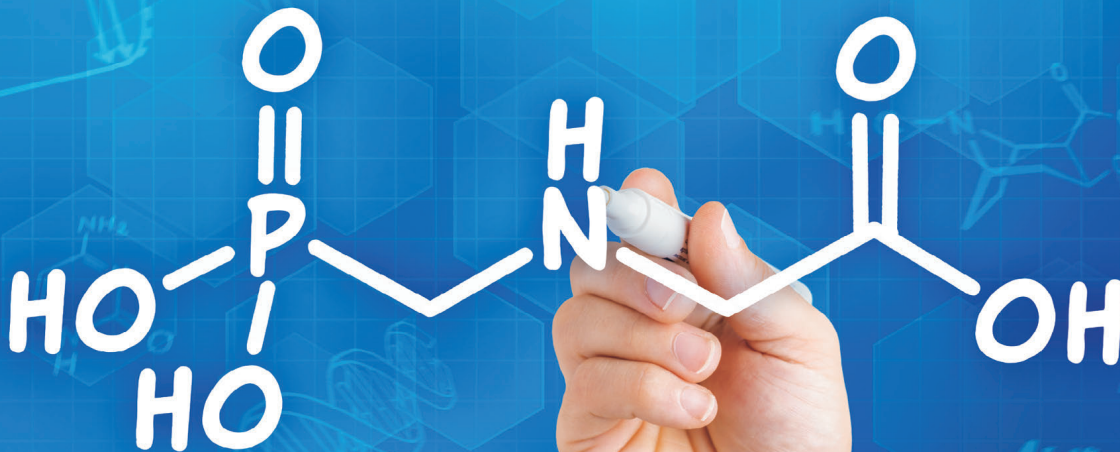
[34] SANCO (2011): Method Validation and Quality Control Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed. European Commission. Document SANCO/12495/2011. Supersedes Document No. SANCO/10684/2009. Implemented by 01/01/2012. Health & Consumer Protection Directorate General, Safety of the Food Chain Chemicals, Contaminants, Pesticides. SANCO/12495/2011. Implemented by 01/01/2012. p. 1-41

http://www.eurl-pesticides.eu/library/docs/allcrl/AqcGuidance_Sanco_2011_12495.pdf (Hozzáférés: 2014.08.30./Accessed: August 30, 2014)

[35] Wessling validálási jelentés (2013): Erősen poláros növényvédő szerek meghatározása élelmiszer mintákban LC-MS-MS módszerrel. AMVR-WESSLING-018-2013-01. p. 1-28

[36] Smith J. M. (2007): Genetic Roulette. The Documented Health Risk of Genetically Engineered Foods. Chelsea Green Publishing, 2007, pp. 147

GLYPHOSATE



A kép illusztráció / The picture is illustration



A kép illusztráció / The picture is illustration

Farkas József¹, Szeitzné Szabó Mária², Mohácsiné Farkas Csilla³

Érkezett/Received: 2014. február/February – Elfogadva/Accepted: 2014. június/June

Mikotoxinok álarcban – új takarmány- és élelmiszer- biztonsági kihívás?

Kulcsszavak: maszkolt mikotoxinok, rejtett mikotoxinok, takarmány-biztonság, élelmiszer-biztonság

1. Összefoglalás

Terjed az a felismerés, hogy a növénytermesztés közben a gazdanövényen megtelepedő toxinogén penészgombák toxinjait a gazdanövények a védekezésük részeként megváltoztathatják: extrahálható konjugátumot képeznek belőlük („maszkolt” mikotoxinok), illetőleg sejtfal-komponensekké rögzítik vagy más biopolimerekhez, extrahálhatatlanul kötik őket („rejtett” mikotoxinok). A maszkolt vagy rejtett mikotoxinok a jelenlegi rutin vizsgálati és ellenőrzési-jogszabályozási körülmények között a mikotoxin kitettség becslésénél figyelmen kívül maradnak. A jelen, figyelemfelkeltést célzó rövid ismertetés példákat ad ilyen mikotoxin származékokra és a velük kapcsolatos analitikai és más kutatási feladatokra.

2. Bevezetés

A penészgombák számos faja különféle toxintermelésük miatt az utóbbi évtizedek meghatározó jelentőségű takarmányozási-állategészségügyi és élelmiszer-ellátási problémájává vált [1]. Ezért a mikotoxinok okozta szennyezettség megállapítása a takarmány- és élelmiszer-ellenőrzés, illetve jogszabályozás fontos feladatai közé tartozik. A probléma világszerte növekszik, egyebek között a termesztett növényeink számára is fokozott stresszhatást okozó időjárási extrémítások gyakoribbá és súlyosabbá válása, valamint a gazdanövények penészgombák-
nak való kitettségének növekedése miatt [2],[3]. Az élelmezés alapját képező gabonafélék közül a kukoricát és a búzát megtámadó/szennyező toxinogén penészgombák okozzák a legfontosabb kihívást. A probléma Földünk minden benépesült területét sújtja [4], bár a különböző régiókban a mikotoxinok mibenléte és a fő gazdanövények különbözőek.

3. „Maszkolt” és „rejtett” mikotoxinok

Az elmúlt években terjed az a felismerés, hogy a toxinogén penészgombák egy részének (a már a növénytermesztés közben károsítóknak) a toxinjait

a gazdanövény mintegy a xenobiotikumokkal szembeni védekezése részeként kémiaiilag megváltoztathatja és extrahálható konjugátumot képez belőlük, vagy extrahálhatatlanul megköti őket. Extrahálhatatlanná válnak a mikotoxinok, ha például sejtfal-komponensekként rögzülnek vagy más biopolimerekhez kötődnek. Ha a mikotoxin származékok is toxikusak, illetőleg az ember vagy állat szervezetében visszaalakulnak az eredeti összetételű toxinokká, akkor a mostani szituációban ezek a jelenlegi vizsgálati, ellenőrzési-jogszabályozási körülmények között az élelmezési-takarmányozási mikotoxin kitettség becslésénél figyelmen kívül maradnak. Az oldott formában a növényben „elraktározott” metabolitokat „maszkos” vagy „maszkolt”, a nem oldott formában lévő, kötött mikotoxinokat „rejtett” toxinoknak nevezik. A maszkolt és a rejtett mikotoxinokat a rutin szűrővizsgálatok jelenleg nem mutatják ki, és ezekre vonatkozóan jogszabályozás sincs.

Szakirodalmi információk erről a potenciális kockázatról elsősorban a *Fusarium* fajok által képzett mikotoxinok egy részéről (nivalenol, dezoxinivalenol: DON, zearalenon: ZEN és fumonizinek) állnak rendelkezésre. Emellett azt is megállapították már, hogy például a DON a toxinogén mikroszkopikus gomba

¹ Budapesti Corvinus Egyetem Hűtő- és Állattermék-Technológiai Tanszéke

² Nemzeti Élelmiszerláncbiztonsági Hivatal Élelmiszerbiztonsági Kockázatértékelési Igazgatóság

³ Budapesti Corvinus Egyetem Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszék

¹ *Corvinus University of Budapest, Department of Refrigeration and Livestocks' Products Technology*

² *National Food chain Safety Office, Food Safety Risk Assessment Directorate*

³ *Corvinus University of Budapest, Department of Microbiology and Biotechnology*

búzában való terjedéséhez szükséges virulencia faktor. Azt is hangsúlyozni kell, hogy a cereália és cereália-alapú élelmiszerek egy kockázatbecslés szerint [5] az Európai Unió népességének fő fuzario-toxin terhelését jelentik. E rövid közleményünkben a teljesség igénye nélkül vázolt témakört a közelmúltban az ILSI Europe nemzetközi konzorcium [6] tárgyalta részleteiben.

4. A maszkolt mikotoxinok kémiai jellege, metabolizálásuk és analitikai problémájuk

A mikotoxin konjugátumok olyan származékok, amelyekben a toxin polárosabb vegyületekhez, pl. glükózhoz, szulfát csoportokhoz, aminosavakhoz kapcsolt formában van. Mikotoxin glükozidok képződésével olyan élelmiszer-biotechnológiáknál is lehet számolni, amelyeknél a gabonaféleségek fermentációs folyamaton mennek keresztül (kenyérkészítés, sörpar stb.). A maszkolt mikotoxinok az emésztés szervezeteiben az emésztés közben bekövetkező hidrolízissel vissza is alakulhatnak az eredeti mikotoxin molekulákká.

Példák a fuzárium toxinok ismertté vált, a növényi anyagcsere következtében képződő származékaira: deoxinivalenol-3-glükozid (D3G), 3-acetil-deoxinivalenol (3ADON), 15-acetil-deoxinivalenol (15ADON), deoxinivalenol-glukuronid (DON-Glc-A), zearalenon-14-glükozid (Z14G), zearalenon-14-szulfát (Z14S), *In vitro* kísérletek azt mutatják, hogy a humán vastagbél mikrobiotájának a baktériumai ilyen mikotoxin származékokból képesek az eredeti mikotoxinokat felszabadítani [7],[8]. Egy másik fontos fuzárium toxin, a fumonizin B1 zsírsav észtereit is kimutatták kukoricából [9], de más mikotoxinok, például az ochratoxin (OTA) és a patulin lehetséges származékaira, ill. megkötődésére vonatkozóan is vannak tapasztalatok [6].

A „maszkolt” mikotoxinok a kimutatása eltérő extrahálhatóságuk, illetőleg a megváltozott fizikokémiai sajátágaik és az eredeti molekulájuktól eltérő elválasztástechnikai és immunológiai viselkedésük miatt a szokásos mikotoxin vizsgálati módszerek alkalmazásakor bizonytalan, a kötött mikotoxinoké pedig nem lehetséges [6]. Ezeket a problémákat figyelembe véve a brit Food Safety Authority (FSA) kutatási támogatásával egy HPLC-MS-MS módszert már kidolgoztak, ami mind a szabad, mind a maszkolt fuzariotoxinokat képes megbízhatóan detektálni és kvantifikálni cereáliából és cereália alapú élelmiszerekből. (http://www.foodbase.org.uk/results.php?f_category_id=&f_report_id=417). A szóban forgó mikotoxin vizsgálati problémákhoz az is hozzátartozik, hogy még nincsenek forgalomban megfelelő referencia vegyületek.

5. Következtetések

Még nem kellően ismert a gazdanövények által kialakított mikotoxin származékok biológiai hozzáférhetősége és toxicitásának a mértéke. Valószínű azonban,

hogy a mikotoxin származékok is hozzájárulnak valamilyen mértékben az ember vagy az állatok mikotoxin kitettségéhez. Szükség van tehát a vázolt problémakör alaposabb megismeréséhez további kémiai és biológiai kutatómunkára, módszertani fejlesztésekre és ezek alapján indokoltta és lehetségessé váló jogszabályozás-módosításra. A problémakörrel az EFSA illetékes testületei is foglalkoznak megfelelő EU biztonsági álláspont kialakítása érdekében.

6. Irodalom/References

- [1] Kovács M. (szerk.) (2010): Aktualitások a mikotoxin kutatásban. Agroinform Kiadó, Budapest, pp. 156
- [2] Mesterházy Á., Lechoczka-Krsjak Sz., Kótai Cs. (2011): Kalász fuzárium elleni védekezés. Gabonakutató Híradó, p. 25 (2) p. 8-9
- [3] Kovács M., Beczner, J., Szeitzné Szabó, M. et al. (2013): Potential Impact of Climate Change of the Mycotoxin Contamination of Feeds. In: Proceedings of the 16th International Symposium on Animal Nutrition: Effect of Climate Change on Animal Nutrition. Kaposvár, 30 August 2013 p. 33-57
- [4] Nährer, K., Kovalsky, P. (2014): Global State of Mycotoxins: Part. 2. All About Feed, 22 (3) p. 6-8
- [5] Schothorst, R. C., van Egmond, H.P. (2004): Report from SCOOP Task 3.2.10.s „Collection of Occurrence Data of Fusarium Toxins in Food and Assessment of Dietary Intake by the Population of EU Member States”, Subtask: Trichotecenes. Toxicology Letters, 153 p. 133-143
- [6] Berthiller, F., Crews, C., Dall’Asta, C. et al. (2013): Masked Mycotoxins: A Review. Mol. Nutr. Food Res. 57 p. 165-186
- [7] Dall’Erta, A., Cirilini, M., Dall’Asta, M. et al. (2013): Masked Mycotoxins are Efficiently Hydrolyzed by Human Colonic Microbiota Releasing their Aglycones. Chem Res. Toxicol., 26 p. 305-312
- [8] Gratz, S., Duncan, G., Richardson, A. (2013): The Human Fecal Microbiota Metabolizes Deoxynivalenol and Deoxynivalenol-3-glucoside and May Be Responsible For Urinary Deepoxy-Deoxynivalenol. Appl. Environ. Microbiol., 79 (6) p. 1821-1825
- [9] Flavigna, C., Lazzaro, I., Galaverna, G. et al. (2013): Fatty Acid Esters of Fumonisin: First Evidence of their Presence in Maize. Food Additives & Contaminants, Part A 30 p. 606-1613

Mycotoxins in masks – a new food and feed safety challenge?

József Farkas¹, Mária Szeitzné Szabó²,
Csilla Mohácsiné Farkas³

Keywords: masked mycotoxins, hidden mycotoxins, feed safety, food safety

1. Summary

The realization is spreading that toxins of toxinogenic molds colonizing host plants during plant growing are altered by the host plants as part of their defense: extractable conjugates are formed from them („masked” mycotoxins), or they are immobilized as cell wall components or are bound to other biopolymers in a way that they cannot be extracted („hidden” mycotoxins). Masked or hidden mycotoxins are not taken into consideration when estimating mycotoxin exposure, under current routine analytical and control-legislative conditions. Examples of just such mycotoxin derivatives, and analytical and other research tasks related to them are given in the present brief overview, which is aimed at raising awareness.

2. Introduction

Several mold species have become feeding-animal health and food supply problems of decisive significance in the last few decades, due to their production of different toxins [1]. Therefore, determination of contamination caused by mycotoxins is among the important tasks of food and feed control, and also of legislation. The problem has been increasing worldwide, because of weather extremities, causing increased stress to our cultivated crops, becoming more frequent and severe, among other things, and also because of the increased exposure of the host plants to molds [2],[3]. The most important challenge is posed by toxinogenic molds colonizing/contaminating corn and wheat, which are among cereals forming the basis of our food supply. This problem affects all populated areas of the Earth [4], although the nature of mycotoxins and main host plants are different in the different regions.

3. „Masked” and „hidden” mycotoxins

The realization has been spreading over recent years that toxins of some of the toxinogenic molds (ones that cause damage during plant growing already) are chemically altered by the host plant as part of its defense against xenobiotics and extractable conjugates are formed, or are bound in an unextractable way. Mycotoxins become unextractable if, for example, they are immobilized as cell wall components or are bound to other biopolymers. If mycotoxin derivatives are also toxic, or if they revert to the original toxins in the human or animal body, then, in the current situation, they are not taken into consideration when estimating food and feed mycotoxin exposure, under current analytical and control-legislative conditions. Metabolites „stored” in the plant in a dissolved form are called „masked” toxins, while bound mycotoxins in not dissolved form are called „hidden” toxins. Masked and hidden mycotoxins are currently not detected by routine screening tests, and there is no legislation for them.

Literature information about this potential risk is mainly available for some of the mycotoxins produced by *Fusarium* species (nivalenol, deoxynivalenol: DON, zearalenone: ZEN and fumonisins). In addition, it was already determined that, for example, DON is the virulence factor ne-

cessary for the spreading of the toxinogenic microscopic fungi in wheat. It has to be emphasized also that cereals and cereal based foods, according to a risk assessment [5], are the main culprits for the *Fusarium* toxin load of the population of the European Union. The topic outlined in this brief communication, with no claim to being exhaustive, was discussed recently in detail by the ILSI Europe international consortium [6].

4. Chemical nature of masked mycotoxins, their metabolism and analytical problem

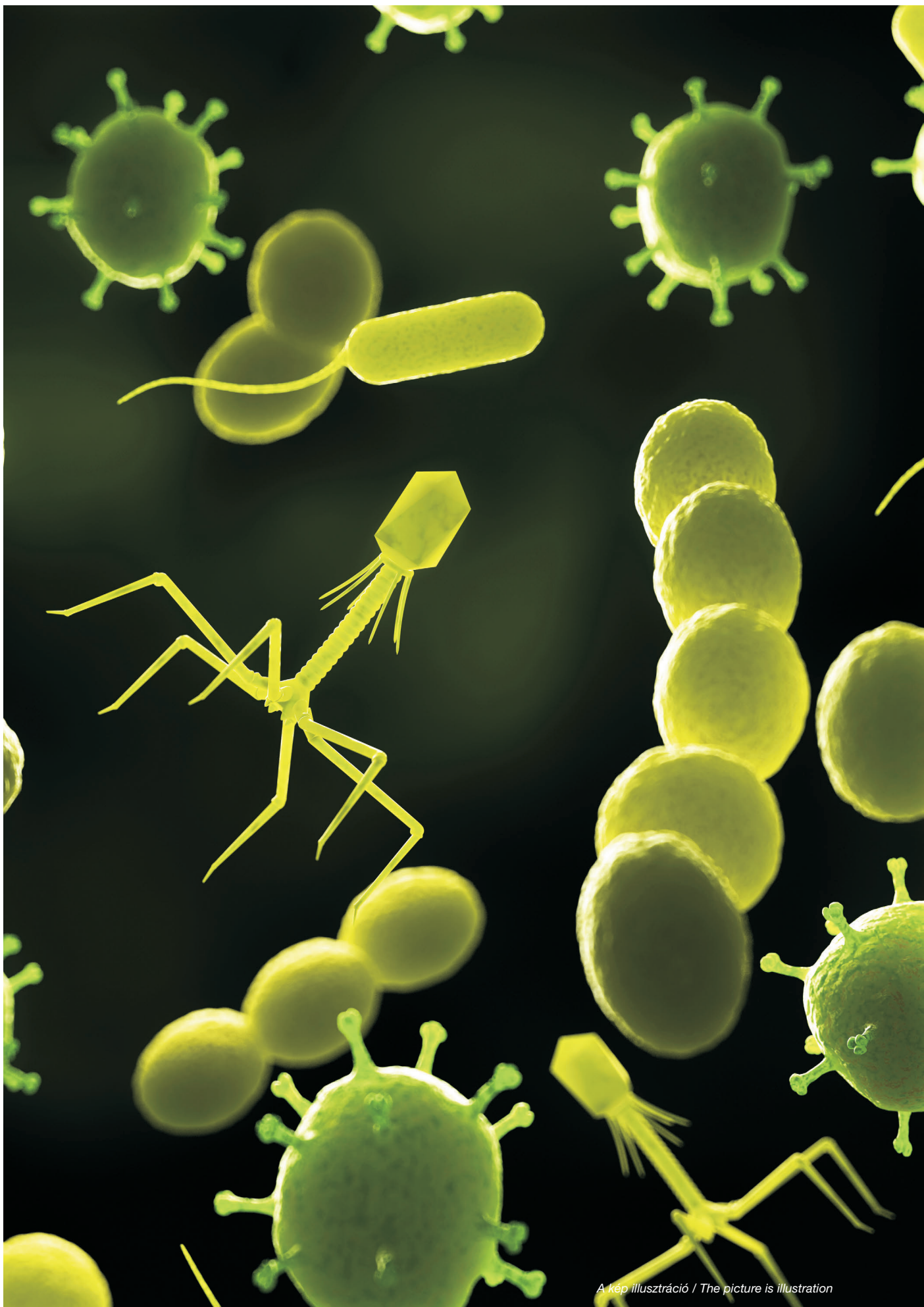
Mycotoxin conjugates are derivatives in which toxins are present in a form bound to more polar compounds, such as glucose, a sulfate group or amino acids. Formation of mycotoxin glucosides is expected in the case of food biotechnologies where cereals undergo fermentation procedures (bread making, brewing of beer etc.). Masked mycotoxins might revert to the original mycotoxin molecules in mammals via hydrolysis occurring during digestion.

Examples of known *Fusarium* toxin derivatives produced during plant metabolism: deoxynivalenol-3-glucoside (D3G), 3-acetyldeoxynivalenol (3ADON), 15-acetyldeoxynivalenol (15ADON), deoxynivalenol glucuronide (DON-Glc-A), zearalenone-14-glucoside (Z14G), zearalenone-14-sulfate (Z14S). *In vitro* experiments have shown that original mycotoxins can be released from such mycotoxin derivatives by bacteria of the human colon microbiota [7],[8]. Fatty acid esters of another important *Fusarium* toxin, fumonisin B1, were also detected in corn [9], but there are also observations regarding possible derivatives and binding of other mycotoxins, for example ochratoxin (OTA) and patulin [6].

Detection of „masked” mycotoxins is uncertain when using the usual mycotoxin analytical methods, because of their different extractability, altered physico-chemical properties, and because their separation technological and immunological behavior is different from that of the original molecule, while detection of bound mycotoxins is not possible [6]. Considering these problems, an HPLC-MS-MS method has already been developed that can reliably detect and quantify both free and masked *Fusarium* toxins in cereals and cereal-based foods, with the research support of the British Food Safety Authority (FSA). (http://www.foodbase.org.uk/results.php?f_category_id=&f_report_id=417). It is also part of the mycotoxin analytical problem in question that there are no suitable reference compounds available commercially.

5. Conclusions

Biological availability and toxicity of mycotoxin derivatives produced by host plants are not yet well known. It is likely, however, that these mycotoxin derivatives contribute to some extent to the mycotoxin exposure of humans and animals. It is necessary, therefore, to investigate this problem more thoroughly via further chemical and biological research and methodology development, and to enact, based on these, justified and possible changes in legal regulation. The problem is also addressed by relevant bodies of EFSA, in order to be able to establish a suitable EU Commission position.



A kép illusztráció / The picture is illustration

Belák Ágnes¹

Érkezett/Received: 2014. február/February – Elfogadva/Accepted: 2014. július/July

A biológiai kontroll alkalmazási lehetőségei élelmiszer eredetű patogén baktériumok gátlására

1. Összefoglalás

A fogyasztók számára az élelmiszerbiztonság ma már nem egy ismeretlen, vagy nehezen meghatározható fogalom. Egészségük megőrzése érdekében egyre nagyobb figyelmet fordítanak a jó minőségű, vitaminokban és ásványi anyagokban gazdag táplálék elfogyasztására, mindemellett kiemelkedően fontos számukra, hogy az elfogyasztott élelmiszer ne okozzon egészségkárosodást. Az aktuális trendek mindig is hatással voltak a fogyasztók táplálkozási szokásaira, ennek következtében az elmúlt években egyre nagyobb lett az érdeklődés a minimális feldolgozással előállított, fogyasztásra kész élelmiszerek iránt. Ezek a termékek azonban sok esetben komoly megbetegedéseket okozó patogén mikroorganizmusokat tartalmaznak, amelyek elfogyasztása súlyosabb esetekben akár halálhoz is vezethet. A biológiai kontroll alkalmazása, mint alternatív technológia hozzájárulhat, hogy biztonságosabb, a kémiai tartósítószeret mellőző termékek kerülhessenek a fogyasztók asztalára.

2. Bevezetés

A patogén mikroorganizmusokkal szennyeződött élelmiszerek elfogyasztása súlyos megbetegedések kialakulásához, illetve bizonyos esetekben akár halálhoz is vezethet. Az egészségügyi kockázatokon túl azonban jelentős gazdasági károkat is okozhat egy-egy élelmiszerrel terjedő patogén mikroorganizmus. A fogyasztók egészségének védelme, valamint az ökonómiai veszteségek csökkentése érdekében tehát fontos feladat a kórokozó baktériumok szaporodásának és az azt befolyásoló tényezőknek a mélyreható vizsgálata. A szaporodásra kifejett ökológiai faktorokon belül a mikroba populációk összetétele, mérete, és a populáció tagjainak kölcsönhatása is jelentős tényező a patogén baktériumok szaporodása, túlélése és megbetegítő képessége szempontjából.

Az élelmiszerekben a kórokozó baktériumok általában kis számban találhatók meg, de már kis sejtkoncentráció mellett is súlyos tünetekkel járó megbetegedéseket okozhatnak. Mind az állati, mind a növényi élelmiszer alapanyagokból gyakran mutathatók ki olyan patogén baktériumok, amelyek enterális (*Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Campylobacter jejuni*) vagy akár súlyosabb, az idegrendszerre is kiható (*Listeria monocytogenes*) megbetegedéseket okoznak. Mivel a zöldségeket és gyümölcsöket sok esetben nyersen fogyasztjuk, a mikrobiológiai kockázat ezen élelmiszerek

esetén igen magas. A patogén baktériumok a felületen megtapadva, vagy akár a növény szöveteibe behatolva túlélhetik a fogyasztás előtti minimális mikrobaszám-csökkentő eljárásokat, így az emberi szervezetbe juthatnak, és ott elszaporodva súlyos tüneteket válthatnak ki. A mikroorganizmusok növényi szövetekbe történő behatolása és perzisztenciája azonban még kevésbé ismert folyamat. Az endofita mikroorganizmusok felfedezése óta (1904) számos kutatás folyt annak megállapítása érdekében, hogy a mikroorganizmusok hogyan képesek a szövetekbe bejutni, és ott milyen kapcsolatot alakítanak ki a gazdaszervezettel. A növényi szövetekből többek között kimutatták már *Salmonella*, *E. coli* O157:H7, *Pseudomonas aeruginosa* és *Cronobacter sakazakii* jelenlétét [16], azaz kórokozó baktériumok is internalizálhatják a növényi szöveteket és ott endofitaként túlélhetnek [3], [1].

A humánpatogén baktériumok elleni védekezés fontos feladat tehát élelmiszerbiztonsági és humán-egészségügyi szempontból is. A patogének visszaszorítására és az élelmiszerek tartósítására számos hagyományos és modern technológiai eljárás áll rendelkezésünkre, azonban a vásárlók számára egyre fontosabb a természetes, kíméletes feldolgozási technológiákkal előállított, tartósítószer-mentes élelmiszerek fogyasztása. Az élelmiszeripar egyik lehetősége ilyen termékek előállítására a biológiai kontroll alkalmazása [12]. A fogyasztók a „biokontroll” megközelítést azonban

¹ Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszék

¹ Budapest Corvinus University Faculty of Food Sciences, Department of Microbiology and Biotechnology

csak abban az esetben fogadják el, amennyiben természetesen előforduló mikroorganizmusokat és/vagy azok antimikrobás metabolitjait használják az élelmiszerek minőségének vagy biztonságának fokozására. A potenciálisan antagonistá hatású mikroorganizmusokat, amelyeket biokontroll szervezetekként szeretnénk alkalmazni, a természetes környezetünkben, az állati vagy növényi élelmiszer alapanyagokon, illetve alapanyagokban érdemes keresnünk.

3. A biokontroll definíciója

A biológiai kontroll tulajdonképpen egy meghatározott szervezet alkalmazása egy másik szervezet populáció sűrűségének csökkentése érdekében, így magába foglalja az állatok, a gyomnövények és a megbetegedéseket okozó organizmusok elleni küzdelmet [2]. A biológiai kontroll során tehát élő szervezeteket – baktériumokat, gombákat, nematódákat, rovarokat, atkákat, illetve bizonyos esetekben vírusokat – alkalmazunk [6] más szervezetek gátlására, de természetes eredetű kémiai vegyületek használatát – mint a növényi extraktumok és a szemiokemikáliák (a biokommunikációban részt vevő molekulák) – szintén engedélyezik biokontrollként való alkalmazásra.

4. A biokontroll és a „postharvest”

Az élelmiszeriparban a biokontroll mechanizmussal kórokozók, illetve romlást okozó szervezetek tevékenységét szabályozhatjuk vagy gátolhatjuk. A zöltségek és gyümölcsök betakarítás utáni (postharvest) veszteségének csökkentésére kifejlesztett eljárások között jelentős szerepet tölt be a biokontroll, mint lehetséges alternatív módszer. Már az 1990-es évek elején piacra került a Bio-Save elnevezésű, *Pseudomonas syringae* baktériumot tartalmazó készítmény, amelyről kimutatták, hogy hatékony védelmet nyújt számos zöltség és gyümölcs tárolás során bekövetkező, gombák által okozott megbetegedés ellen (<http://www.jetharvest.com/biosave.html>). A betakarítás, valamint a gyümölcsök további kezelése során keletkező sérülések megvédhetők a sebeket fertőző gombákkal szemben, amennyiben az alkalmazandó biokontroll hatású mikroorganizmus számára megteremtjük szaporodásának optimális feltételeit. Ez elérhető a környezet befolyásolása révén, azaz a hőmérséklet, a nedvességtartalom, vagy akár a gázösszetétel változtatásával. Mivel igen nehéz olyan mikroorganizmust szelektálni, amely önmagában képes többféle káros mikroba szaporodását gátolni, ezért gyakran alkalmazzák különböző, szinergista hatású mikrobák keverékét biokontroll céllal. Az antagonistá mikroorganizmusok fiziológiai tulajdonságainak változtatásával megnövelhető az ellenálló képességük bizonyos ökológiai tényezőkkel szemben, ami különösen fontos egy folyamatosan változó környezetben alkalmazandó biokontroll törzs esetében, továbbá fokozható a törzsek biokontroll mechanizmusa is [10].

Ma már számos olyan publikációval találkozhatunk a nemzetközi szakirodalomban, amelyek tárgyköre és

célkitűzése a betakarítás utáni veszteségek csökkentése gátló hatással rendelkező mikroorganizmusok segítségével [10], [5], [15]. Hazánkban is több kutatócsoport foglalkozott és foglalkozik ma is (így a Budapesti Corvinus Egyetem Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszéke) a gazdasági károk csökkentése érdekében olyan biokontroll hatású mikrobák izolálásával, szelektálásával és jellemzésével, amelyek a tárolás során bekövetkező romlási folyamatokat indukáló káros mikroszervezetek szaporodását és élettevékenységét képesek megakadályozni [17], [18].

5. Biológiai kontroll mechanizmusok

A biológiai kontroll az egymásra ható szervezetek kölcsönhatásain alapszik, ezért a kutatások elsősorban a különböző kísérleti körülmények között működő mechanizmusok jellemzésére fókuszálnak. Az élelmiszeriparban a baktériumok ellen alkalmazható biológiai kontrollok és biokontroll mechanizmusok között meg kell említeni (1) a bakteriofágokat, (2) a ragadozó baktériumokat, (3) a mikroorganizmusok közötti versengést, (4) a védőkultúrák használatát, (5) az antimikrobás metabolitok felhasználásának lehetőségét, és (6) a „quorum sensing” mechanizmust.

5.1. Élelmiszer eredetű patogén baktériumok gátlása bakteriofágokkal

A bakteriofágok vagy fág-termékek alkalmazása az élelmiszerek előállításában csak nemrég vált az élelmiszeripar egyik lehetőségévé, mint új biokontroll módszer a nemkívánatos patogének gátlására főként a friss és fogyasztásra kész élelmiszerek biztonságának fokozás érdekében. Míg várható, hogy egyre több fejlesztés alatt álló fág készítmény válik elérhetővé a jövőben, számos kérdés vetődik fel az ilyen termékek alkalmazásával – az azonnali és hosszú távú hatékonysággal, a fogyasztók biztonságával és az alkalmazás lehetőségével – kapcsolatban.

A bakteriofágok baktériumokat fertőző vírusok, amelyek csak a specifikus gazdát képesek megfertőzni, és csak abban képesek szaporodni. A gazdaspecifikusság általában törzs vagy faj szinten jellemző, azonban ritkán nemzetség szinten is megfigyelhető. A bakteriofágok ezen specifikussága használható fel a kórokozó baktériumok elleni védekezésben. Alkalmazásuk azonban csak bizonyos feltételek mellett lehetséges: a baktériumnak és a bakteriofágnak egyszerre kell ugyanazon a helyen lennie, másrészt a gazdának érzékenynek kell lennie az alkalmazandó bakteriofágra [8]. A fágfertőzés során a baktériumot megtámadó vírus nukleinsava bejut a gazdasejtbe annak sejt falán keresztül, majd a gazdasejt által a vírus nukleinsava alapján létrehozott új fágok (úgynevezett lítikus fágok) a fertőzést követően hamarosan elpusztítják a baktériumot. A gazdasejtben keletkező körülbelül 100 új vírus partikulum a sejt fal lebontásával kiszabadul a sejtből (sejtlízis), és valamennyi képes lesz újabb baktérium sejteket megfertőzni [13].

A fertőző betegségek elleni küzdelemben a fágte-

Potential application areas of biological control for the inhibition of pathogenic bacteria of food origin

Ágnes Belák¹

1. Summary

Today, food safety is already a known and well-defined concept for consumers. In order to maintain their health, they pay more and more attention to the consumption of good quality food rich in vitamins and minerals, and it is also extremely important for them that the food consumed does not cause any health damages. Current trends have always had an effect on the dietary habits of consumers, therefore, the interest in ready-to-use foods produced with minimal processing increased significantly in recent years. However, pathogenic microorganisms causing serious illnesses are often contained in these products, and so their consumption can lead to even death, in more severe cases. Application of biological control as an alternative technology can contribute to putting safer products on the consumer's table, containing no chemical preservatives.

2. Introduction

Consumption of foods contaminated with pathogenic microorganisms can lead to serious illnesses, even – in severe cases – to death. In addition to these health risks, food-borne pathogenic microorganisms can also cause considerable economic damages. Therefore, it is an important task to perform an in-depth analysis of the proliferation of pathogenic bacteria and factors influencing it, in order to protect the health of consumers and to reduce economic losses. Of ecological factors influencing proliferation, the composition and size of microbial populations and the interactions of the members of the population have great significance, with respect to the growth, survival and virulence of pathogenic bacteria.

Pathogenic bacteria are generally present in foods in small numbers, but even at low cell concentrations, they can cause illnesses with severe symptoms. Pathogenic bacteria that can cause enteral diseases (*Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Campylobacter jejuni*), or more severe illnesses affecting the nervous system (*Listeria monocytogenes*) can often be detected in food raw materials of both animal and vegetable origin. Since fruits and vegetables are, in many cases, consumed raw, the microbiological risk of these foods is very high. By adhering to surfaces, or even penetrating plant tissues, pathogenic bacteria can survive procedures aimed at reducing microbial counts before consumption, they can enter the human body, and after proliferation they can cause severe symptoms. However, penetration of plant tissues by microorganisms and their persistence is not a well-known process. Since the discovery of endophytic microorganisms (1904), several studies have been performed in order to determine how microorganisms are able to penetrate tissues, and what kind of relationship they establish with the host organism. The presence of *Salmonella*, *E. coli* O157:H7, *Pseudomonas aeruginosa* and *Cronobacter sakazakii* has already been detected in plant tissues, among others [16] (Strobel & Daisy, 2003), which means that pathogenic bacteria can also internalize plant tissues, and they can survive there as endophytes [3], [1] (Berg et al., 2005; Ansingkar & Kulkarni, 2010).

This means that protection against human pathogens is an important task, for both food safety and human health reasons. There are many traditional and modern technological procedures available to suppress pathogens and to preserve foods, but it has become increasingly important for customers to consume natural foods free of preservatives, that were produced using gentle processing technologies. One of the possibilities the food industry can use to produce such products is biological control [12]. However, the “biocontrol” approach is only accepted by consumers if naturally occurring microorganisms and/or their antimicrobial metabolites are used to improve the quality or increase the safety of foods. One should look for potentially antagonistic microorganisms that can be used as biocontrol organisms in our natural surroundings, on or in food raw materials of animal or plant origin.

3. Definition of biocontrol

Biological control is basically the application of a specific organism in order to decrease the population density of another organism, thus including the fight against animals, weeds and pathogenic organisms [2]. So, during biological control, living organisms – bacteria, fungi, nematodes, insects, mites or, in certain cases, viruses – are used to inhibit other organisms [6], but the use of chemical compounds of natural origin – such as plant extracts and semiochemicals (molecules participating in biocommunication) – as biocontrol agents is also permitted.

4. Biocontrol and „postharvest”

In the food industry, the biocontrol mechanism is used to regulate or suppress the activities of pathogens or spoilage organisms. Among the procedures developed to control postharvest losses of fruits and vegetables, a significant role is played by biocontrol, as a possible alternative method. The product Bio-Save, containing the bacterium *Pseudomonas syringae* was already launched at the beginning of the 1990s, which was shown to provide effective protection against diseases caused by fungi during the storage of several fruits and vegetables (<http://www.jetharvest.com/biosave.html>). Injuries arising during the harvest and subsequent handling of the fruits can be protected against fungi infecting the wounds if optimal proliferation conditions are established for the microorganism to be used as a biocontrol agent. This may be achieved by influencing the environment, i.e. changing the temperature, the humidity or even the gas composition. Since it is very difficult to select a microorganism that can suppress the proliferation of a mixture of several harmful microbes in itself, therefore, a mixture of different microbes with synergistic effects are often used in biocontrol. By changing the physiological properties of antagonistic microorganisms, their resistance to certain ecological factors can be increased, which is especially important in the case of biocontrol strains to be used in a constantly changing environment, and the biocontrol mechanism of the strains can be improved as well [10].

Nowadays, one can find many publications in the international literature that deal with and are aimed at minimizing postharvest losses with the help of microorganisms with inhibitory effects [10], [5], [15]. There have been several research groups in Hungary as well (such as the Department of Microbiology and Biotechnology of Corvinus University of Budapest) working on the isolation, selection and characterization of biocontrol microbes that can suppress the proliferation and life activities of harmful microorganisms inducing spoilage processes during storage, in order to reduce economic damages [17], [18].

rápia alkalmazását nem sokkal a fágok felfedezését követően javasolták, és kezdtek el alkalmazni. Az antibiotikumok széles körben történő felhasználása azonban számos országban háttérbe szorította a bakteriofágokkal történő kezeléseket. Azokban az országokban viszont, ahol a fágterápiával kapcsolatos kutatások tovább folytak, a fágokat széles körben alkalmazták és alkalmazzák mindmáig. A bakteriofágok alkalmazása patogének gátlására az élelmiszeriparban hasonlóan hasznos lehet. Ez különösen igaz olyan patogén baktérium, mint a *Listeria monocytogenes* esetében, amely a gazdaszervezetbe történő bejutást követően intracelluláris patogénként viselkedik, így elérhetlenné válik az immunrendszer vagy a liszteriózisban szenvedő betegeknél beadott bakteriofágok számára [8]. Nem meglepő tehát, hogy az első élelmiszeriparban alkalmazható fágkészítményt, a ListexTMP100-at *Listeria* gátlására fejlesztették ki sajtokban és húskészítményekben [13]. Ma már számos más patogén baktérium, így *Campylobacter* [4], *Salmonella* [20], *Escherichia coli* [14] vagy *Staphylococcus aureus* esetében találkozhatunk kidolgozott biológiai kontroll folyamatokkal, amelyben bakteriofágokat alkalmaznak a kórokozók gátlására, illetve elpusztítására.

Az élelmiszerek esetén alkalmazható (biokontroll) fágokkal szemben támasztott követelmények az alábbiak: (i) széles gazdaspektrum (képesek legyenek megfertőzni egy adott faj és/vagy nemzetség tagjait), (ii) kizárólag lítikus (virulens) fágok alkalmazhatók, (iii) előállítás nem-patogén gazdasejtben történő felszaporítással, (iv) a teljes genom szekvencia ismerete, (v) a nem vírus eredetű (bakteriális) DNS transzformációjának hiánya, (vi) patogenitást vagy potenciális allergén fehérjéket kódoló gének teljes hiánya, (vii) a kedvezőtlen élettani hatások hiányának kimutatása etetési vizsgálatokkal (nem lehet toxikus az emberi szervezetre), (viii) GRAS státusz, (ix) stabilitás a tárolás és alkalmazás során, valamint (x) alkalmas legyen nagy mennyiségben történő előállításra (léptéknöveléssel) [8].

5.2. Bakteriális ragadozók

Az élővilágban számos különleges morfológiájú, esetleg jellegzetes helyváltoztatásra képes (például csúszva mozgó), vagy akár ragadozó életmódot folytató baktériummal találkozhatunk. A Gram-negatív baktériumok egyik jellegzetes nemzetsége a *Bdellovibrio*, amelynek tagjai ragadozó életmódot folytatnak más Gram-negatív baktériumokon. A *Bdellovibrio*-k behatolnak a gazdasejt periplazmájába, majd elszaporodva a citoplazmában lizálják a gazda baktériumot, hogy újabb sejteket megtámadva folytathassák életciklusukat. A dimorf *Bdellovibrio*-k életciklusa kétfázisú. A támadási fázisban a kisméretű, flagellummal rendelkező sejtek gyorsan haladva keresnek gazdasejteket, a találkozás azonban véletlenszerű, mivel kemotaxist ez idáig nem mutattak ki ezeknél a ragadozó baktériumoknál. A találkozást és a megtapadást követően a ragadozó a gazdasejt periplazmájába penetrál, miközben elveszíti hosszú flagellumát. A növekedési fázisban a megtámadott

sejt az úgynevezett bdelloplaszt állapotba kerül. Ebben a „bezárt” állapotban a kis *Bdellovibrio* sejt egy szeptumok nélküli filamentummá alakul, majd a körülbelül 45 percre tartó lag fázist követően megindul a DNS replikáció, amely néhány órán keresztül, a sejt növekedésével együtt zajlik. Ezután a filamentum többszöri hasadással új sejtekre tagozódik, majd az utódok kiszabadulnak a gazdaként szolgáló, megtámadott sejtéből. A bdelloplasztban belül a *Bdellovibrio* védve van a fotoxidációtól valamint a fág-támadástól, továbbá megnövekedett rezisztencia jellemzi a szennyező anyagokkal szemben [11].

A *Bdellovibrio*-k gyakran megtalálhatók a környezetben, és mivel széles gazdaspektrummal rendelkeznek, különösen fontosak lehetnek a Gram-negatív patogének, így az élelmiszerekben valamint vizekben előforduló *Salmonella*-k vagy az *E. coli* O157:H7 elleni küzdelemben [13]. Fratamico és Whiting [7] különböző patogén és romlást okozó baktériumok, így például patogén *E. coli* ellen alkalmazták hatékonyan a *Bdellovibrio bacteriovorus* fajt.

5.3. Versengés

Az elmúlt néhány évben a fogyasztók szimpátiája a természetes élelmiszertartósítási technológiák iránt megnövekedett, így a környezetünkben megtalálható antagonisták mikroorganizmusok vagy azok metabolitjainak alkalmazása egyre nagyobb jelentőségre tesz szert az élelmiszeriparban. Ezek a mikrobák a megtámadás vagy megsemmisítés helyett az adott élőhelyről vagy ökológiai egységből kiszorítják a patogéneket a versengő kirekesztésre (competitive exclusion) révén úgy, hogy túlnövik azokat, így kedvezőtlen feltételeket teremtenek számukra a szaporodáshoz, illetve életfolyamataik fenntartásához.

A versengő mikrobióta tagjai azonban többféle módon is képesek szabályozni vagy gátolni a kórokozók élettevékenységét, így a tápanyagért történő versengéssel, gátlóanyagok termelésével, az immunrendszer stimulálásával és/vagy a specifikus kötőhelyekért történő versengéssel. A versengő kirekesztésre képes mikrobák esetében előnyös, ha azok jól tapadnak az epiteliális sejtek felületéhez a megfelelő kolonizáció érdekében [13].

Kereskedelmi forgalomban kapható a kanadai Can-Biocin cég Procin[®] nevű terméke (<http://www.can-biocin.ca/index.html>), amely az állatok egészségének megőrzésére alkalmazható készítmény. A termék az állatok emésztőrendszerében természetesen is megtalálható tejsavbaktériumokat tartalmaz, és sertések esetében jól alkalmazható a patogén *E. coli* ellen. Ugyanakkor az élelmiszerek biztonságának növelése érdekében kifejlesztésre került a Micocin[®] elnevezésű, szintén természetesen előforduló tejsavbaktériumokat tartalmazó készítmény, amely például vákuumcsomagolt, fogyasztásra kész húskok esetében természetes védelmet biztosít a kórokozók, így például a *Listeria monocytogenes* ellen.



All the ingredients for the safest, highest quality food and beverages.

Laboratories that make Waters an essential part of their food and beverage testing process always know what they're getting. Innovative technologies that deliver safe, quality products more efficiently and cost effectively. Attribute it to a 50-year focus on innovation and a commitment to helping laboratories in every way.

Analytically, scientifically, operationally. In the end, it's all about stocking shelves around the globe with food and beverages that taste great every time. **To discover what's possible in your world, visit waters.com/food.**

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Pharmaceutical & Life Sciences | Food | Environmental | Clinical | Chemical Materials

5.4. Védőkultúrák

A mikroorganizmusok élettevékenységéből származó előnyök kiaknázása az élelmiszerek tartósításában nem új keletű. Őseink számos élelmiszerüket mikroorganizmusok segítségével, azaz erjesztéssel állították elő, így növelve meg eltarthatóságukat és élvezeti értéküket. A tejsavbaktériumok védőkultúráként való alkalmazása az élelmiszerek biztonságának fokozása érdekében régóta a figyelem középpontjában áll. Felhasználásuk során fontos paraméter a megfelelő gátló hatás kiváltásához szükséges sejtmennyiség, valamint az érzékszervi tulajdonságokra kifejtett lehetséges hatás.

Számos élelmiszer, így húsok, halak, zöldségek és tejtermékek esetében alkalmaztak már tejsavbaktériumokat az eltarthatósági idő növelésére, valamint a termék biztonságának fokozására. Antimikrobás hatásuk a tejsav-, valamint a különböző antimikrobás vegyületek (például bakteriocinek) termelésének tulajdonítható. A tejsavbaktériumokhoz hasonlóan számos *Bifidobacterium* törzset használtak már tenger gyümölcseinek, halak, baromfi termékek vagy tejtermékek eltarthatósági idejének meghosszabbítására, valamint a patogének elleni védelem elérésére. Az eltarthatósági idő az élelmiszer típusától és az alkalmazás módjától függően akár 3-tól 14 napig is növelhető, továbbá más technológiákkal kombinálva, mint a kálium-szorbát adagolás, tovább fokozható [13]. Ugyan a tejsavbaktériumok jelentős diverzitása jellemzi a friss zöldségeket és gyümölcsöket (elsősorban *Lactobacillus* és *Leuconostoc*, míg kisebb számban *Weissella*, *Enterococcus* és *Lactococcus* törzsek fordulnak elő) Trias és munkatársai [19] csak meglehetősen kis arányban találtak közöttük élelmiszer eredetű patogén baktériumokat gátló törzseket. Friss zöldségekről és gyümölcsökről izolált tejsavbaktériumok közül elsősorban a *Leuconostoc* nemzetség törzsei esetében tapasztaltak jelentős patogén elleni gátló hatást. A védőkultúrák mellett, hogy kórokozó elleni hatással rendelkeznek, nem veszélyeztethetik a fogyasztó egészségét, illetve sok esetben előnyösen befolyásolják a fogyasztó egészségét. A probiotikumok jótékony hatásának köszönhetően a szervezetünk védekező képessége a kórokozó mikrobákkal szemben fokozódik.

5.5. Antimikrobás metabolitok

Az elmúlt néhány évtizedben nyert tapasztalataink a fermentációs folyamatokban részt vevő starterkultúrákkal kapcsolatban hozzájárultak ahhoz a nagyon fontos felismeréshez, hogy a tejsavbaktériumok számos fiziológiai tulajdonsága hozzájárul a patogén baktériumok gátlásához, továbbá a termékek eltarthatósági idejének, valamint érzékszervi tulajdonságainak szabályozásához. A tejsavbaktériumok által termelt metabolitok, így az ecetsav, a diacetil/acetoin, a metántiol, vagy a H₂S a termék jellegzetes aromájának kialakításához járulnak hozzá, míg más anyagcseretermékek (tejsav, CO₂, H₂O₂) a termék eltarthatóságának növeléséhez szükségesek. A szerves savak (a tejsav és az ecetsav) a rothasztó Gram-negatív baktériumok

és gombák, a hidrogén peroxid, a laktoperoxidáz és a lizozim a patogének és romlást okozók ellen nyújtanak védelmet. A kis molekulájú metabolitok (reuterin, diacetil és zsírsavak), valamint a bakteriocinek szintén sokféle baktérium szaporodását gátolják [9].

Az antimikrobás metabolitok között kell megemlíteni azokat a kelátképző vegyületeket, más néven sziderofórokat is, amelyek ugyan a patogén baktériumok esetében gyakran, mint virulencia faktorok kerülnek megemlítésre, bizonyos esetekben azonban jelentős mértékben képesek gátolni azok szaporodását. A természetben gyakorta megtalálható *Pseudomonas* nemzetség számos törzséről megállapították, hogy antagonistá hatással rendelkeznek patogén baktériumokkal szemben. A gátló hatás az antibiotikumok mellett sok esetben a sziderofóroknak tulajdonítható, amely vegyületek képesek megkötni a patogének életműködéséhez elengedhetetlen fémionokat, köztük elsődlegesen a vasat, így gátolva a kórokozók szaporodását.

5.6. Quorum sensing

A baktériumok folyamatosan változó komplex ökológiai rendszerekben élnek. Ahhoz, hogy a változásokat túlélhessék, érzékelniük és értelmezniük kell a környezetüket, amelyre a szaporodás fokozásával vagy adaptív válaszok kiváltásával reagálnak. Azok a baktériumok, amelyek nem képesek adaptálódni, vagy reagálni a környezeti változásokra, elpusztulnak, azonban megfelelő reakciók esetében adaptálódnak a változó feltételekhez. Ez különösen igaz azokra a baktériumokra, amelyek feldolgozott élelmiszerekben fordulnak elő. Továbbá egy-egy baktérium önmagában nem, csak közösségben képes az adott környezetben megélni, amely gyakran más baktérium fajtákat, vagy akár más mikroorganizmusokat, így fonalgombákat vagy élesztőgombákat is magába foglal. A sejtjelzés (cell signaling) vagy quorum sensing (QS) ezeken a közösségeken belül egy jól megalapozott jelenség, amely kis jelző molekulák (úgynevezett autoinducerek) detektálása által irányítja a baktériumok összehangolt viselkedését. A quorum sensing lehetőség ad a baktériumok számos tevékenysége esetén a sejtsűrűség függvényében történő szabályozásra, így a felülethez való tapadásra, a biofilm képzésre, a virulencia faktorok kifejeződésére, vagy akár másodlagos anyagcsere termékek előállítására. Sok QS által irányított mikrobás tevékenység vesz részt az élelmiszerek romlásában, valamint a patogének élelmiszer-mátrixban való túlélésében [13].

A baktériumok quorum sensing folyamatáról részletes és nagyon jó áttekintés nyújt Farkas József és Mohácsiné Farkas Csilla 2014. márciusában megjelent tanulmánya az Élelmiszervizsgálati Közlemények egy korábbi számában [22].

6. Következtetések

A mikroorganizmusok egymásra gyakorolt hatásának tanulmányozása, mélyrehatóbb megismerése, illetve

5. Biological control mechanisms

Biological control is based on the interactions of organisms mutually affecting each other, therefore, research is mainly focused on the characterization of mechanisms operating under different experimental conditions. Among biological controls and biocontrol mechanisms that can be applied against bacteria in the food industry, the following should be mentioned: (1) bacteriophages, (2) predatory bacteria, (3) competition among microorganisms, (4) the application of protective cultures, (5) the possible use of antimicrobial metabolites, and (6) the mechanism called „quorum sensing”.

5.1. Suppression of food-borne pathogenic bacteria with bacteriophages

The application of bacteriophages or phage products has only recently become one of the possibilities of the food industry as a new biocontrol method to suppress unwanted pathogens in the production of foods, mainly to increase the safety of fresh and ready-to-use foods. While it is expected that many more phage products, currently in the developmental stage, will become available in the future, there are several questions that need to be answered about the use of such products, such as immediate and long-term efficiency, consumer safety and possible applications.

Bacteriophages are viruses infecting bacteria that can only infect specific hosts and can only proliferate in them. Host specificity usually means a strain or a species, but can rarely be observed at the genus level. This specificity of bacteriophages can be used in the defense against pathogenic bacteria. However, they can only be used if certain conditions are met: on the one hand, the bacterium and the bacteriophage have to be in the same place at the same time, and on the other hand, the host has to be sensitive to the bacteriophage to be applied [8]. During phage infection, the nucleic acid of the virus attacking the bacterium enters the host cell through its cell wall, and then, soon after the infection, the new phages produced by the host cell based on the nucleic acid of the virus (the so-called lytic phages) destroy the bacterium. The approximately 100 new virus particles produced by the host cell are released by the decomposition of the cell wall (cell lysis), and all of them are capable of infecting further bacterial cells [13].

In the fight against infectious diseases, the application of phage therapy was suggested soon after the discovery of phages, and its use indeed began. Nevertheless, bacteriophage treatment was overshadowed in several countries by the widespread use of antibiotics. However, in those countries where research on phage therapy continued, phages have been widely used and are still used today. The application of bacteriophages in the food industry to suppress pathogens can be similarly useful. This is especially true in the case of the pathogenic bacterium *Listeria monocytogenes*, which behaves as an intracellular pathogen following its entry into the host cell, so that it becomes inaccessible to the immune system or to bacteriophages administered to patients suffering from listeriosis [8]. It is not surprising then that the first phage product which could be used in the food industry, Listex™P100, was developed to inhibit *Listeria* in cheese and meat products [13]. Today, there are established biological control processes for several other pathogenic bacteria, such as *Campylobacter* [4], *Salmonella* [20], *Escherichia coli* [14] or *Staphylococcus aureus*, in which bacteriophages are used to inhibit or destroy pathogens.

Requirements for (biocontrol) phages to be used for

foods are as follows: (i) broad host spectrum (to be able to infect members of a given species and/or genus), (ii) only lytic (virulent) phages can be used, (iii) produced by proliferation in non-pathogenic host cells, (iv) knowledge of complete genome sequence, (v) lack of transformation of non-viral origin (bacterial) DNA, (vi) complete lack of genes coding pathogenicity or potentially allergenic proteins, (vii) demonstration of a lack of adverse physiological effects by feeding studies (cannot be toxic to the human body), (viii) GRAS status, (ix) stability during storage and application, and (x) suitability for large scale production (with upscaling) [8].

5.2. Bacterial predators

One can encounter several bacteria in biology that have special morphologies, can move in a characteristic way (for example gliding bacteria), or even ones that practice a predatory lifestyle. A characteristic genus of Gram-negative bacteria is *Bdellovibrio*, whose members prey on other Gram-negative bacteria. *Bdellovibrio* bacteria enter the periplasm of the host cell, proliferate in the cytoplasm, lyse the host bacterium, and then attack new cells to continue their life cycles. Dimorphic *Bdellovibrios* have a two-phase life cycle. In the attack phase, small cells possessing flagella move fast in search of host cells, but encounters are random, since chemotaxis has not been detected so far in these predatory bacteria. Following the encounter and adhesion, the predator penetrates into the preplasm of the host cell, while losing its long flagellum. In the growth phase, the cell that was attacked enters the so-called bdelloplast state. In this „closed” state, the small *Bdellovibrio* cell turns into a filament without septa and, after a lag phase of approximately 45 minutes, DNA replication commences, which then goes on for several hours, together with cell growth. Following this, the filament divides into new cells by multiple fissions, and the progeny are released from the host cell that was attacked. Within the bdelloplast, *Bdellovibrio* is protected from photooxidation and from phage attacks, and it is also characterized by an increased resistance to contaminants [11].

Bdellovibrios are often found in the environment, and since they have a broad host spectrum, they can be especially important in the fight against Gram-negative pathogens, such as *Salmonella* or *E. coli* O157:H7 occurring in foods and waters [13]. The species *Bdellovibrio bacteriovorus* was used effectively by Fratamico and Whiting [7] against different pathogenic and spoilage bacteria, such as pathogenic *E. coli*.

5.3. Competition

In recent years, there has been an increased consumer sympathy for natural food preservation technologies, so the significance of the application of antagonist microorganisms found in our environment or their metabolites has also been increasing in the food industry. Instead of attacking or destroying them, these microbes displace pathogens from the given habitat or ecological unit by outgrowing them (competitive exclusion), and thus establishing unfavorable conditions for their proliferation and the maintenance of their life processes.

However, members of the competing microbiota are able to regulate or suppress the life activities of pathogens in several ways, such as by competing for nutrients, by producing inhibitors, by stimulating the immune system and/or by competing for specific binding sites. For microbes capable of competitive exclusion it is advantageous, for proper colonization, if they can adhere well to the surface of epithelial cells [13].

új, eddig még nem vizsgált gátló hatással rendelkező mikroorganizmusok izolálása a környezetünkben vagy élelmiszereinkből fontos lehet a gyakran súlyos megbetegedéseket okozó patogén baktériumok gátlásában. Mivel a fogyasztók a biológiai kontroll fogalmával kezdenek megismerkedni és megbarátkozni, egyre nagyobb érdeklődés tapasztalható a természetes tartósítási eljárásokkal készített, mikrobákat vagy azok anyagcsere termékeit felhasználó, kémiai vegyületektől mentes élelmiszer előállítási módszerek iránt. Ugyan a biokontroll alkalmazása nem újkeletű az élelmiszeriparban, mégis a fogyasztók ismereteinek bővítése, valamint a szélesebb körben történő elfogadás elősegítése céljából többet kellene hallaniuk a hasznos mikroorganizmusokról, illetve az általuk előidézett kedvező élettani hatásokról egészségünk védelme érdekében.

7. Köszönetnyilvánítás

Munkámat a TÁMOP 4.2.4.A/1-11-1-2012-0001 azonosító számú Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése országos program című kiemelt projekt támogatta. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

8. Irodalomjegyzék / References

[1] Ansingkar, V., Kulkarni, N. (2010): Incidences of Endophytic Human Pathogens in Fresh Produce. *Webmed Central Microbiology*, 1 (12) WMC001299

[2] Bale, J.S., van Lenteren, J.C., Bigler, F. (2008): Biological Control and Sustainable Food Production. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 363 p. 761–776

[3] Berg, G., Eberl, L., Hartmann, A. (2005): The Rhizosphere as a Reservoir for Opportunistic Human Pathogenic Bacteria. *Environmental Microbiology*, 7 (11) p. 1673–1685

[4] Connerton, P.L., Timms A.R., Connerton, I.F. (2011): Campylobacter Bacteriophages and Bacteriophage Therapy. *Journal of Applied Microbiology*, 111 (2) p. 255–265

[5] Droby, S., Wisniewski, M., Macarisin, D., Wilson, C. (2009): Twenty Years of Postharvest Biocontrol Research: Is it Time for a New Paradigm? *Postharvest Biology and Technology*, 52 p. 137–145

[6] Ehlers, R.-U. (2011): Regulation of Biological Control Agents and the EU Policy Support Action REBECA. In: Ehlers, R.-U. (ed.) *Regulation of Biological Control Agents*. Chapter 1 p. 3-23

[7] Fratamico, P. M., Whiting, R. C. (1995): Ability of *Bdellovibrio bacteriovorus* 109J to Lyse Gram-Negative Food-Borne Pathogenic and Spoilage Bacteria. *Journal of Food Protection* 58 (2) p. 160-164

[8] Hagens, S., Loessner, M.J. (2010): Bacteriophage for Biocontrol of Foodborne Pathogens: Calculations and Considerations. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 11 p. 58-68

[9] Holzapfel, W.H., Geisen, R., Schillinger, U. (1995): Biological Preservation of Foods with Reference to

Protective Cultures, Bacteriocins and Food-grade Enzymes. *International Journal of Food Microbiology*, 24 p. 343-362

[10] Janisiewicz, W. J., Korsten, L. (2002): Biological Control of Postharvest Diseases of Fruits. *Annual Review of Phytopathology*, 40 p. 411–441

[11] Jurkevitch, E. (2006): The Genus *Bdellovibrio*. In: Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., Stackebrandt, E. (eds). *Prokaryotes*, Volume 7: Proteobacteria: Delta, Epsilon Subclass, Chapter 3.4.2. p. 12-30

[12] Leverentz, B., Conway, W. S., Janisiewicz, W., Abadias, M., Kurtzman, C.P., Camp, M.J. (2006): Biocontrol of the Food-borne Pathogens *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* serovar Poona on Fresh-cut Apples with Naturally Occurring Bacterial and Yeast Antagonists. *Applied and Environmental Microbiology*, 72 (2), p. 1135–1140

[13] McIntyre, L., Hudson, J.A., Billington, C., Withers, H. (2007): Biocontrol of Foodborne Bacteria: Past, Present and Future Strategies. *Food New Zealand*, 7 (5) p. 25-36

[14] McLean, S. K., Dunn, L. A., Palombo, E.A. (2013): Phage Inhibition of *Escherichia coli* in Ultrahigh-temperature-treated and Raw Milk. *Foodborne Pathogens and Disease*, 10 (11) p. 956-962

[15] Sharma, R. R., Singh, D., Singh, R. (2009): Biological Control of Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables by Microbial Antagonists: A Review. *Biological Control* 50 p. 205–221

[16] Strobel, G., Daisy, B. (2003): Bioprospecting for Microbial Endophytes and their Natural Products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67 (4) p. 491–502

[17] Taczman-Brückner, A., Mohácsi-Farkas, Cs., Balla, Cs., Kiskó, G. (2005a): Comparison of Biocontrol Activity of *Kluyveromyces lactis* with Other Yeast Strains Against *Penicillium expansum*. *Acta Alimentaria*, 34 (1) p. 71-80

[18] Taczman-Brückner, A., Mohácsi-Farkas, Cs., Balla, Cs., Kiskó, G. (2005b): Mode of Action of *Kluyveromyces lactis* in Biocontrol of *Penicillium expansum*. *Acta Alimentaria*, 34 (2) p. 153-160

[19] Trias, R., Bañeras, L., Badosa, E., Montesinos, E. (2008): Bioprotection of Golden Delicious Apples and Iceberg Lettuce Against Foodborne Bacterial Pathogens by Lactic Acid Bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 123 p. 50–60

[20] Woolston, J., Parks, A. R., Abuladze, T., Anderson, B., Li, M., Carter, C., Farris Hanna, L., Heyse, S., Charbonneau, D., Sulakvelidze, A. (2013): Bacteriophages Lytic for *Salmonella* Rapidly Reduce *Salmonella* Contamination on Glass and Stainless Steel Surfaces. *Bacteriophage*, 3 (3), e25697-1–e25697-6

[21] Yoon, H., Yun, J., Lim, J.-A., Roh, E., Jung, K.-S., Chang, Y., Ryu, S., Heu, S. (2013): Characterization and Genomic Analysis of Two *Staphylococcus aureus* Bacteriophages Isolated from Poultry/livestock Farms. *Journal of General Virology*, 94 p. 2569–2576

[22] Farkas, J., Mohácsiné Farkas, Cs. (2014): Baktériumok kommunikációja és annak élelmiszer-tudományi jelentősége. *Élelmiszervizsgálati Közlemények* (60) 1 p. 38-43

There is a commercially available product named Procin® of the Canadian company CanBioicin (<http://www.canbiocin.ca/index.html>), which can be used to preserve the health of animals. This product contains lactic acid bacteria that also occur naturally in the digestive tract of animals, and it can be used effectively against pathogenic *E. coli* in the case of swine. The product named Micocin®, also containing naturally occurring lactic acid bacteria, was developed to increase the safety of foods, and it provides natural protection against pathogens, such as *Listeria monocytogenes* in the case of, for example, vacuum-packed, ready-to-eat meats.

5.4. Protective cultures

Exploitation of the benefits arising from the life activities of microorganisms in food preservation is not a new idea. A number of foods were produced by our ancestors with the help of microorganisms, i.e. by fermentation, thus increasing their shelf-life and their enjoyment value. Attention has been centered on the use of lactic acid bacteria as a protective culture to increase food safety for a long time. One of the important parameters during their application is the cell quantity necessary to achieve proper inhibitory effect, and also their possible effect on sensory properties.

Lactic acid bacteria have been used for several foods, such as meats, fish, vegetables and dairy products, to increase shelf-life, and also to improve product safety. Their antimicrobial effect is due to the production of lactic acid and other antimicrobial compounds (e.g. bacteriocins). Like lactic acid bacteria, several *Bifidobacterium* strains have also been used to increase the shelf-life of fruits of marine, fish, poultry and dairy products, and to protect them against pathogens. Depending on the type of food and the method of application, shelf-life can be increased from 3 days to up to 14 days, and it can even be increased further by combination with other techniques, such as the addition of potassium sorbate [13]. Although fresh fruits and vegetables are characterized by a significant diversity of lactic acid bacteria (mainly *Lactobacillus* and *Leuconostoc*, and, to a smaller extent, *Weissella*, *Enterococcus* and *Lactococcus* strains are present), only a few of them were found by Trias et al. [19] to inhibit strains of food-borne pathogenic bacteria. Of lactic acid bacteria isolated from fresh fruits and vegetables, significant pathogen inhibition effect was observed primarily in the case of strains of the genus *Leuconostoc*. In addition to their anti-pathogenic effect, consumer health is not endangered by protective cultures, moreover, in many cases they have beneficial effects. Due to the beneficial effects of probiotics, the body's capacity for defense increases.

5.5. Antimicrobial metabolites

Our experience, obtained over the past few decades about starter cultures participating in fermentation processes, contributed to the very important discovery that many physiological properties of lactic acid bacteria promote the inhibition of pathogenic bacteria, and also the regulation of product shelf-life and sensory properties. Metabolites produced by lactic acid bacteria, such as acetic acid, diacetyl/acetoin, methanethiol or H_2S , contribute to the characteristic aroma of the product, while other metabolites (lactic acid, CO_2 , H_2O_2) are necessary to increase the shelf-life of the product. Organic acids (lactic acid and acetic acid) protect against Gram-negative putrefactive bacteria and fungi, while hydrogen peroxide, lactoperoxidase and lysozyme protect against pathogens and spoilage agents. Low molecular weight metabolites (reuterin, diacetyl and fatty acids) and bacteriocins also inhibit the proliferation of

several bacteria [9].

Among antimicrobial metabolites, also have to be mentioned chelating compounds, also known as siderophores, which are often listed as virulence factors in the case of pathogenic bacteria, but, in certain cases, they can inhibit their proliferation significantly. It has been determined about several strains of the genus *Pseudomonas*, often found in nature, that they possess antagonistic effects against pathogenic bacteria. In many cases the inhibitory effect, in addition to antibiotics, is attributed to the siderophores, which can bind metal ions, primarily iron, essential for the life activities of the pathogens, thus inhibiting the proliferation of the pathogens.

5.6. Quorum sensing

Bacteria live in constantly changing complex ecological systems. In order to survive changes, they have to sense and interpret their environment, and react by increased proliferation or by producing adaptive responses. Bacteria that are unable to adapt or to respond to environmental changes perish, but if their reaction are appropriate, they adapt to changing conditions. This is particularly true for bacteria that are present in processed foods. Furthermore, an individual bacterium cannot survive alone, only as part of a community, in a given environment, often containing other bacterial species and even other microorganisms, such as filamentous fungi or yeasts. Cell signalling or quorum sensing (QS) within these communities is a well-established phenomenon, which directs coordinated behavior of bacteria by detecting small signal molecules (so-called autoinducers). For several bacterial activities, such as adhesion to surfaces, biofilm formation, expression of virulence factors or even the production of secondary metabolic products, quorum sensing allows for the regulation as a function of cell density. Many QS-controlled microbial activities are involved in the spoilage of foods, and also in the survival of pathogens in food matrices [13].

A detailed and excellent overview of the quorum sensing processes of bacteria are given in the paper of József Farkas and Csilla Mohácsiné Farkas, which appeared in a former issue of the Journal of Food Investigations [22].

6. Conclusions

It can be important for the inhibition of pathogenic bacteria, often causing serious illnesses, to study the effects of microorganisms on each other, to obtain in-depth knowledge, and to isolate from our environment or from our foods microorganisms possessing new, not yet studied inhibitory effects. Since consumers begin to get to know and become familiar with the concept of biological control, there has been an increasing interest in foods produced by natural preservation processes that use microbes or their metabolites and are free of chemical compounds. Although application of biocontrol is not new to the food industry, in order to broaden consumer knowledge and achieve wider acceptance, people should hear more about useful microorganisms, and the beneficial physiological effect produced by them to protect our health.

7. Acknowledgement

My work was subsidized by the TÁMOP with 4.2.4.A/1-11-1-2012-0001 identification number National Excellence Program developed for support and to make operate of national personnel student and researcher programs. The project has been realized with the donation of European Union with the collaborative support of European Social Foundation.



A kép illusztráció / The picture is illustration

Csóka Mariann¹, Tolnay Pál¹, Szabó S. András¹

Érkezett/Received: 2014. január/January – Elfogadva/Accepted: 2014. június/June

Hársméz diasztázaktivitásának változása hőkezelés hatására, illetve a tárolás során

1. Bevezetés

A mézben található enzimek közül a diasztáz az egyik legnagyobb jelentőségű, a Magyar Élelmiszerkönyv mézre vonatkozó előírása külön határértékeket ad meg erre a paraméterre. A diasztáz-szám általánosan minimum 8 (a definíciót lásd később), illetve az elvárt érték nagyon kis természetes enzimentartalmú mézek esetében legalább 3. A diasztáz (α - és β -amiláz keveréke) keményítő bontó enzim, működése nyomán főleg maltóz keletkezik. Az enzim a méh garatmirigy-váladékából kerül a mézbe az érlelési folyamat során, mennyiségét befolyásolja a nektár összetétele és koncentrációja, a méhek kora és a nektár folyásának intenzitása is [3]. Jelenlétének mértéke a mézben a hamisítatlanság egyik alapvető kritériuma. A jó minőségű mézek diasztázaktivitása általában magas.

A mézek diasztáz tartalma a hosszú ideig tartó tárolás vagy hőkezelés hatására jelentősen csökkenhet, de ismert tény az is, hogy bizonyos mézek esetében (pl. akác, narancs, eukaliptusz) eleve alacsony. Ennek az a magyarázata, hogy egyes növények nektárjaiban nagyobb a szárazanyag tartalom, vagyis a méhek a rövidebb ideig tartó sűrités során kevesebb enzimanyagot kevernek hozzá. A mézek rutinszerűen vizsgált paraméterei közül a legnagyobb mérési bizonytalanság a diasztázaktivitás meghatározása során lép fel, ezért nemzetközi körvizsgálatok során az akkreditáló szervezetek az átlagtól való viszonylag nagy (20-30 %-os) eltérést is elfogadnak.

Mézek diasztázaktivitása a keményítőbontás mértéke alapján határozható meg [2],[4],[6],[7],[8],[9]. A mérés során általában adott koncentrációjú keményítőoldatot és mézet inkubálnak együtt, és a kísérlet végén meghatározzák a visszamaradt (lebontatlan) keményítőoldatot vagy a fragmentumok mennyiségét, többnyire spektrofotometriás módszerrel. Az így meghatározott jellemző érték a Goethe-szám (diasztáz szám), amely megadja, hogy 1 g mézben levő diasztáz enzim hány ml 1 %-os keményítőoldatot képes 1 óra alatt 45-50 °C között lebontani. Általában 10-18 közötti az értéke, egyes fajtamézeknél azonban fajtából eredően lehet alacsonyabb (8-10), illetve magasabb is. Az alsó határ a 8-as érték, ez alatt már romlottnak, rossz minőségűnek tekintik a mézet. A túl alacsony enzimaktivitás éretlenségre, helytelen tárolásra vagy szakszerűtlen hőkezelésre utalhat, ezért a diasztázaktivitás a mézminősítés egyik fontos paramétere [1]. Ezt (a tényezőt) nagymértékben befolyásolja a méz savtartalma is: működési optimuma pH 5,0-5,2 között van, semleges pH-n már gyenge az enzimhatás, erősen savas körülmények között (pH < 3,3) pedig gyorsan bomlik.

Jelen közleményünkben a tárolás, illetve a hőkezelés diasztázaktivitásra kifejtett hatásának vizsgálatáról számolunk be hárszméz esetén.

¹ Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszerkémiai és Táplálkozástudományi Tanszék - andras.szabo@uni-corvinus.hu

¹ Corvinus University of Budapest, Department of Food Chemistry and Nutrition - andras.szabo@uni-corvinus.hu

2. Anyag és módszer

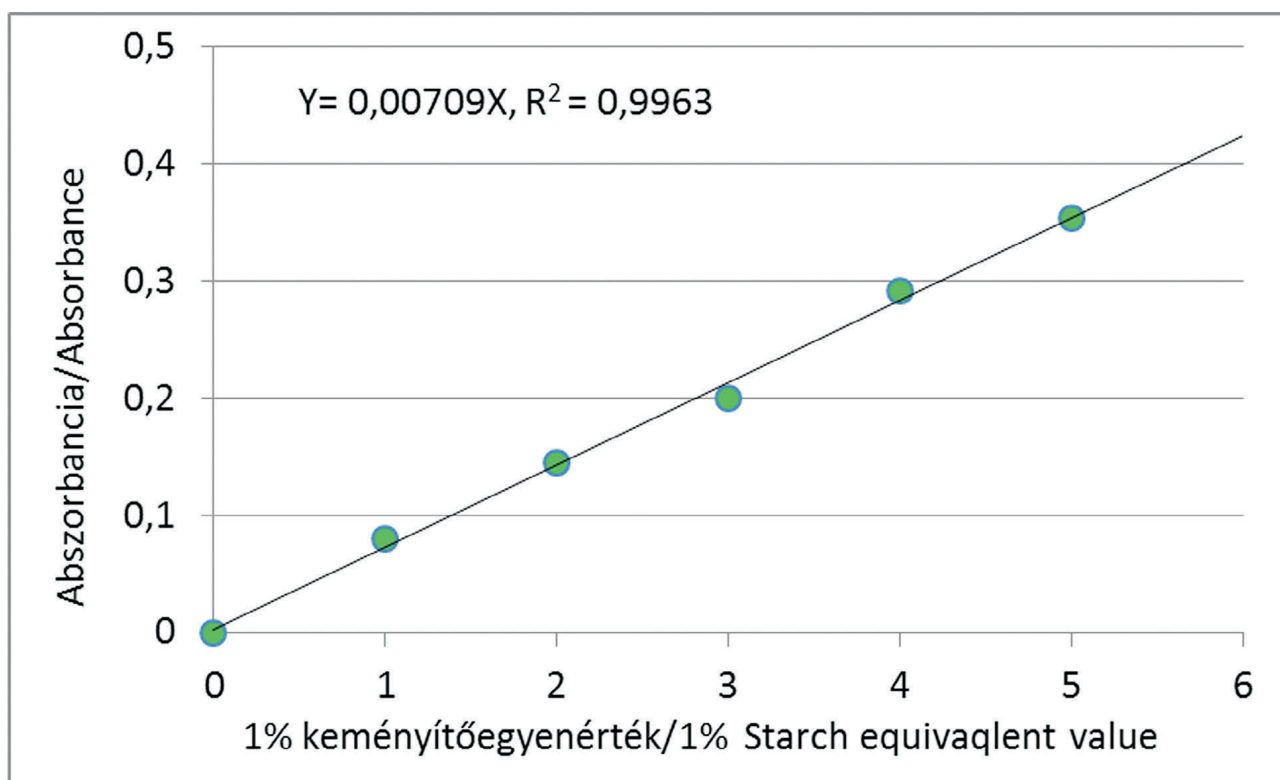
A diasztázaktivitás vizsgálatára saját módszert dolgoztunk ki, amely lényegében hasonló a széles körben alkalmazott Goethe-féle eljáráshoz, amellyel nem dinamikus, hanem statikus módon vizsgálja a diasztázaktivitást: adott ideig (1 óráig) zajló enzimreakciót valósít meg. Hasonlít ugyanakkor a Schade-White-Hadorn módszerhez is, mivel a meghatározás jódd-keményítő színreakció vizsgálatán alapul, és a diasztázaktivitást spektrofotometriás úton adja meg. A szabványban rögzített módszerektől eltérően a kidolgozott metodikában az eredményeket kalibrációs egyenes segítségével lehet értelmezni.

Vizsgálatainkhoz kereskedelmi forgalomból származó hársmézet használtunk. A hőkezelés enzimaktivitásra kifejtett hatását 75 illetve 90 °C-on történő kezeléssel, a tárolás hatását pedig 10 és 30 °C-on való tárolással modelleztük. A keményítőt bontást és a jóddal történő színreakciót követően 600 nm-en spektrofotometriás vizsgálatot végeztünk. A külön-

böző koncentrációjú keményítőoldatok segítségével felvett kalibrációs egyenessel meghatározható az adott kémcsőben le nem bontott 1 %-os keményítőnek megfelelő keményítő mennyiség.

3. Vizsgálati eredmények és értékelésük

A diasztáz aktivitás mérésére kidolgozott módszer alapján kalibrációs egyenes segítségével lehet az eredményeket megadni. A vizsgálatnál alkalmazott kalibrációs egyenes lefutása, egyenlete és a korrelációs koefficiens az **1. ábrán** látható. Mivel módszerünk - eltérően a döntő módszertől - nem figyeli az enzimreakció időbeli lefutását, hanem csak egy konkrét, 1 órás időintervallumot vizsgál, így statikus diasztázaktivitás-vizsgálatnak neveztük el, a megadandó eredményt pedig megkülönböztetésül statikus diasztázaktivitásnak. Az alkalmazott új módszert összevetettük a szabványban rögzített, Goethe-féle módszerrel, melynek eredménye saját módszerünk alkalmasságát támasztotta alá.



1. ábra. A diasztáz aktivitás mérésénél alkalmazott kalibrációs egyenes (mérési hullámhossz: 600 nm)
Figure 1 Measurement calibration curve of the diastase activity (the used wavelength 600 nm)

A hőkezelés enzimtevékenységre gyakorolt hatását vizsgálva arra az eredményre jutottunk, hogy mind a 75 °C-os, mind a 90 °C-os hőterhelés hatására csökkent a diasztáz aktivitás. Ez a jelenség az enzim fehérje természetével magyarázható, mivel az a hőkezelés hatására – részben vagy egészben – denaturálódott, így keményítőt bontó tulajdonsága is káros-

dást szenvedett. A grafikus ábrázolásból (**2. ábra**) jól kitűnik, hogy a statikus diasztázaktivitás-csökkenés sokkal nagyobb mértékű a magasabb hőmérsékletű kezelés hatására (több mint 7-szeres), ugyanakkor mindkét hőmérséklet esetében lineáris jellegű a változás.

Changes in the diastase activity of linden honey due to heat treatment, and during storage

Mariann Csóka¹, Pál Tolnay¹, András S. Szabó¹

1. Introduction

Of the enzymes found in honey, diastase is one of the most important ones, in fact, there is a separate limit value given for this parameter in the regulation of the Hungarian Food Codex regarding honey. Generally, the minimum diastase number is 8 (see definition later), or in the case of honey with low natural enzyme content, the expected value is at least 3. Diastase (a mixture of α - and β -amylase) is an enzyme that breaks down starch, which results mainly in maltose. The enzyme enters the honey during ripening from the hypopharyngeal secretions of bees, and its quantity is influenced by the composition and concentration of the nectar, the age of the bees and the intensity of the nectar flow [3]. Its presence in honey is one of the basic criteria of genuineness. Good quality honey usually has a high diastase activity.

The diastase content of honey can decrease significantly due to long-term storage or heat treatment, but is also known that certain types of honey (e.g. acacia, orange, eucalyptus) contain low concentrations of diastase to begin with. This is explained by the fact that the nectar of certain plants has a higher dry matter content, therefore, less enzyme material is added to it during the shorter thickening period by the bees. Of the parameters routinely analyzed in honey, determination of diastase activity has the highest measurement uncertainty, therefore, relatively large deviations (20 to 30%) from the average are accepted by accreditation bodies during international proficiency tests.

The diastase activity of honey can be determined based on the degree of degradation of starch [2],[4],[6],[7],[8],[9]. Generally, a starch solution of a given concentration and honey are incubated together, and at the end of the experiment either the amount of remaining (undegraded) starch solution or that of the fragments is determined, usually by a spectrophotometric method. The characteristic value thus determined is the Goethe number (diastase number), which specifies the amount of 1% starch solution in ml that is degraded over one hour at 45-50 °C by the diastase enzyme contained in 1 g of honey. This value is usually somewhere between 10 and 18, but in the case of certain types of honey it can be lower (8-10) or higher, depending on the species. The lower limit is 8, below this the honey is considered spoiled or bad quality. Too low enzyme activity might indicate unripeness, inappropriate storage or improper heat treatment, therefore, diastase activity is one of the important parameters of honey qualification [1]. This factor is also greatly influenced by the acid content of honey: its optimum operating pH is between 5.0 and 5.2, at neutral pH the enzyme activity is low, and at strongly acidic pH (pH < 3.3) the enzyme decomposes rapidly.

In the present paper, investigations of the effects of storage and heat treatment on diastase activity are reported, in the case of linden honey.

2. Materials and methods

A proprietary method for the determination of diastase

activity was developed, which is essentially similar to the widely used Goethe procedure, measuring diastase activity not in a dynamic, but a static way: it is an enzyme reaction lasting a certain amount of time (1 hour). It is also similar to the Schade-White-Hadorn method, because the measurement is based on a colour reaction between iodine and starch, and diastase activity is determined spectrophotometrically. Unlike the methods listed in the standards, interpretation of the results in the newly developed method is performed with the help of a calibration curve.

For our analyses we used commercially available linden honey. The effect of heat treatment on enzyme activity was simulated by treatment at 75 and 90 °C, while that of storage by storage at 10 and 30 °C. Spectrophotometric analysis was performed at 600 nm after starch degradation and the colour reaction with iodine. The amount of starch corresponding to the 1% starch solution not degraded in the given test tube can be determined using the calibration curve recorded with the help of different concentration starch solutions.

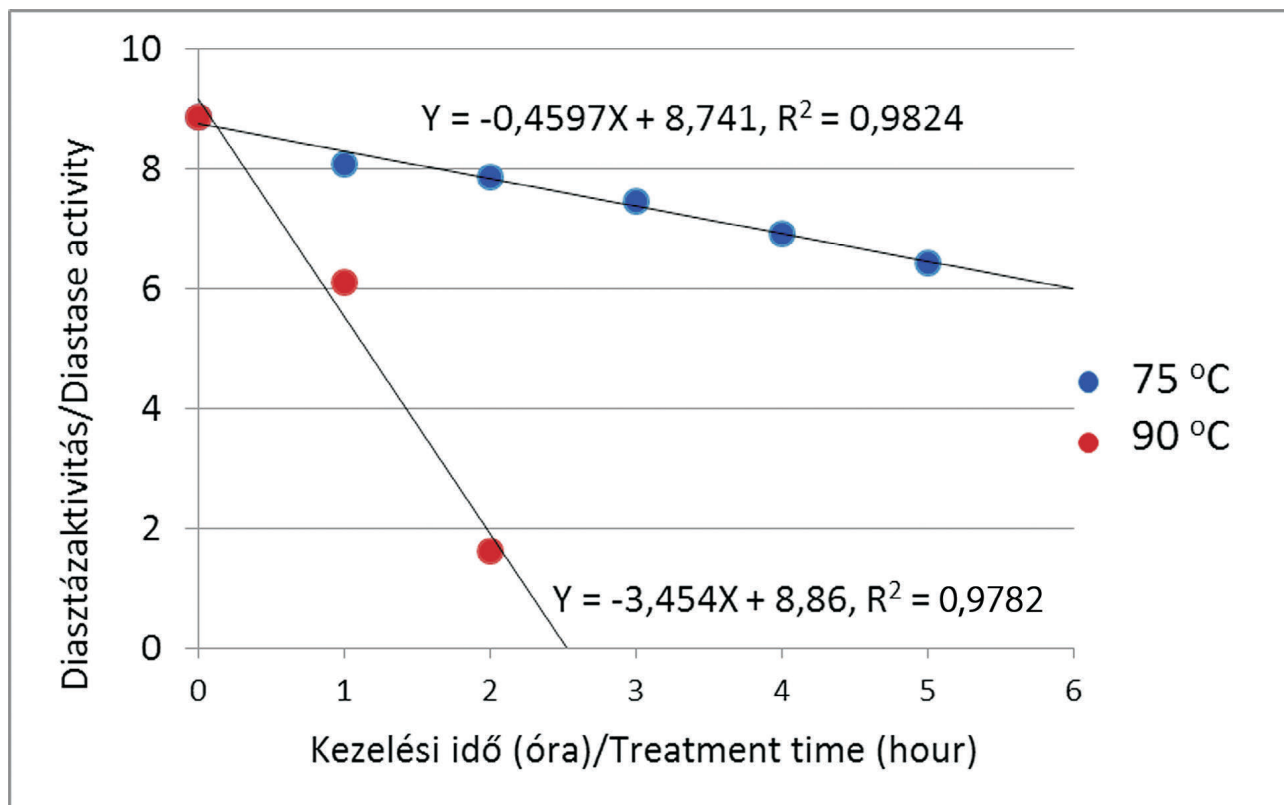
3. Analytical results and their interpretation

Based on the method developed for the measurement of diastase activity, results are given with the help of a calibration curve. The run of the calibration curve, its equation and the correlation coefficient are shown in **Figure 1**. Since our method – unlike the decisive method – does not monitor the course of the enzyme reaction over time, but only analyses a specific 1-hour time period, therefore, we decided to call it a static diastase activity test, and the result we call static diastase activity, to differentiate from the previous one. The newly developed method was compared to the standard Goethe method, and the result proved the suitability of our proprietary method.

When investigating the effect of heat treatment on enzyme activity, it was found that heat treatment at both 75 and 90 °C resulted in decreased diastase activity. This phenomenon can be explained by the protein nature of the enzyme, because it was – partially or completely – denatured due to heat treatment, and so its starch degrading property was damaged. It is clear from the graphic representation (**Figure 2**) that the decrease in static diastase activity is much more pronounced (more than 7-fold) when heat treatment is performed at a higher temperature, but changes are linear in the case of both temperatures.

Despite different storage conditions (10 °C and 30 °C), changes in diastase enzyme activity were similar (**Figure 3**). In both cases, enzyme activity decreased, the decrease was linear, but approximately 1.6 times faster when stored at 30 °C than at 10 °C. After storing honey for 90 days at the latter temperature, diastase activity was almost as low as that after heat treatment at 75 °C for 5 hours. In other words, prolonged storage at low temperatures has a similar inhibitory effect on enzyme activity as heat treatment at 75 °C for 5 hours. Storage at 30 °C decreased enzyme activity even more forcefully. Based on the results described above it can be stated that the extent of enzyme damage due to improper storage can be even greater than changes in the case of honey undergoing a short heat treatment.

The slopes of the calibration curves obtained for honey samples stored at 30 °C, and heat treated at 75 and 90 °C were plotted as a function of the temperature, and a curve



2. ábra A vizsgált méz minta statikus diasztáz aktivitásának változása 75 és 90 °C-os hőkezelés hatására a kezelési idő függvényében
 Figure 2 Alteration of static diastase activity on 75 and 90 °C in the versus of time

A diasztáz enzim aktivitása az eltérő tárolási körülmények (10 °C és 30 °C) ellenére jellegében hasonló változást mutatott (3. ábra). Mindkét esetben csökkent az enzimaktivitás, a csökkenés lineáris, ugyanakkor 30 °C-os tárolás hatására mintegy 1,6-szor gyorsabb, mint 10 °C-on. Ez utóbbi hőmérsékleten 90 napig tárolva a mézet, a diasztáz aktivitás közel olyan alacsony szintre csökkent, mint az 5 órán át tartó 75 °C-os hőkezelés hatására. Vagyis a huzamosabb ideig tartó alacsony hőmérséklet, hasonló gátló

hatást fejt ki az enzim működésére, mint az 5 órán át tartó 75 °C-os hőmérsékletű hőkezelés. A 30 °C-os tárolás még erőteljesebben csökkentette az enzimaktivitást. A leírt eredményekből megállapítható, hogy a helytelen tárolás hatására az enzimekárosodás mértéke akár nagyobb is lehet, mint egy rövid ideig tartó hőkezelésnek alávett méz esetében fellépő változás.



A kép illusztráció / The picture is illustration

was fitted to these points. This showed an exponential relationship. Based on the curve obtained, one can estimate the expected hourly decrease in diastase activity of a honey stored/treated at a given temperature, as shown in **Figure 4**. It can be calculated from this, how long a honey with a given diastase activity stored or treated at a certain temperature will satisfy the requirements of the Hungarian Food Codex [5]. According to the equation describing the curve, it can be estimated, for example, that the shelf life of a honey with a diastase activity of 15 (and with low HMF content) will be roughly 200 days when stored at 35 °C, but at 100 °C, even a treatment of 55 minutes has fatal effects.

This means that processes that take place in honey due to storage or heat treatment can be followed by analysing

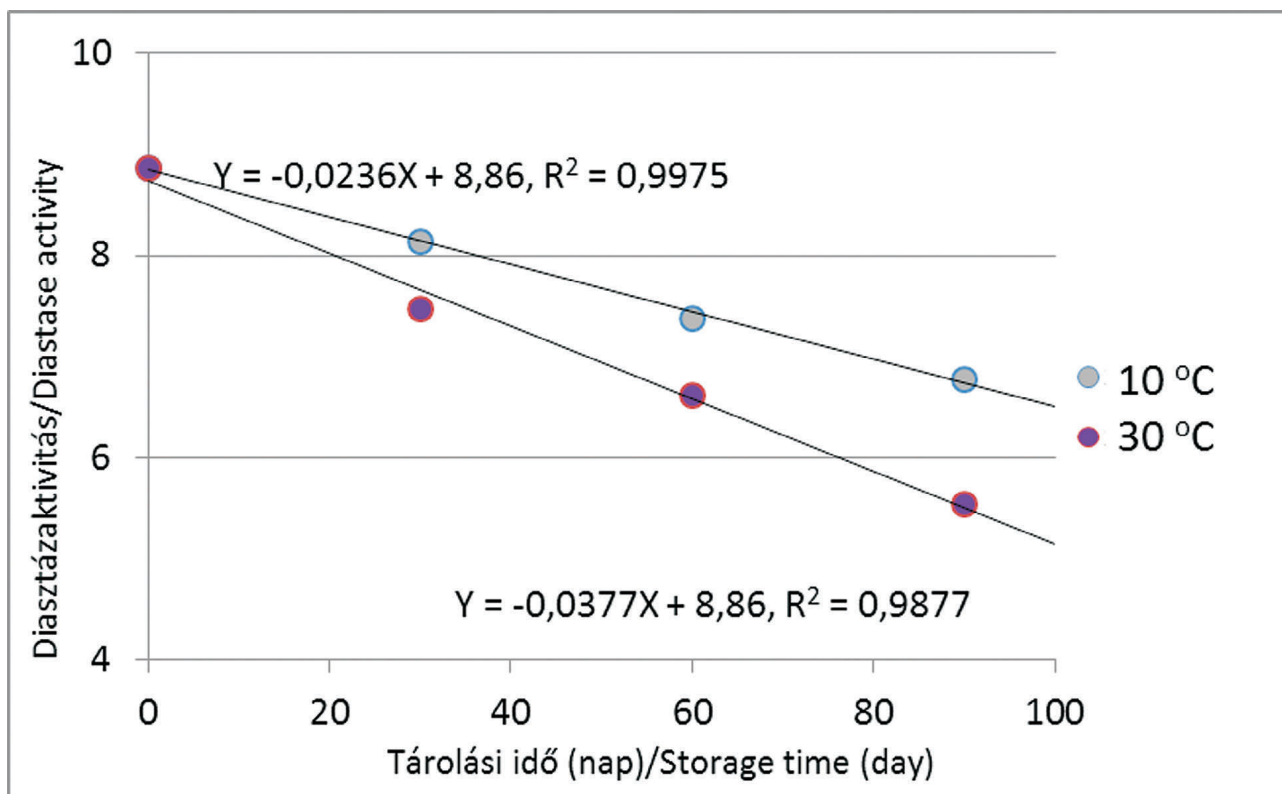
changes in diastase activity. Due to improper storage or processing the diastase activity of honey can easily fall below levels prescribed by relevant regulations.

4. Summary

Improper storage or excessive heat treatment of honey is indicated by the decrease in diastase enzyme activity. Because of the protein nature of the enzyme, this decrease in activity is more pronounced at higher temperatures. Damage to diastase – and, thus, a decrease in its operability – was already observable during the treatment of linden honey at 75 °C, but at 90 °C, the starch degrading activity of the enzyme was completely gone in a few hours. The activity of the enzyme also decreased during storage, but this decrease proved to be marginal.



A kép illusztráció / The picture is illustration



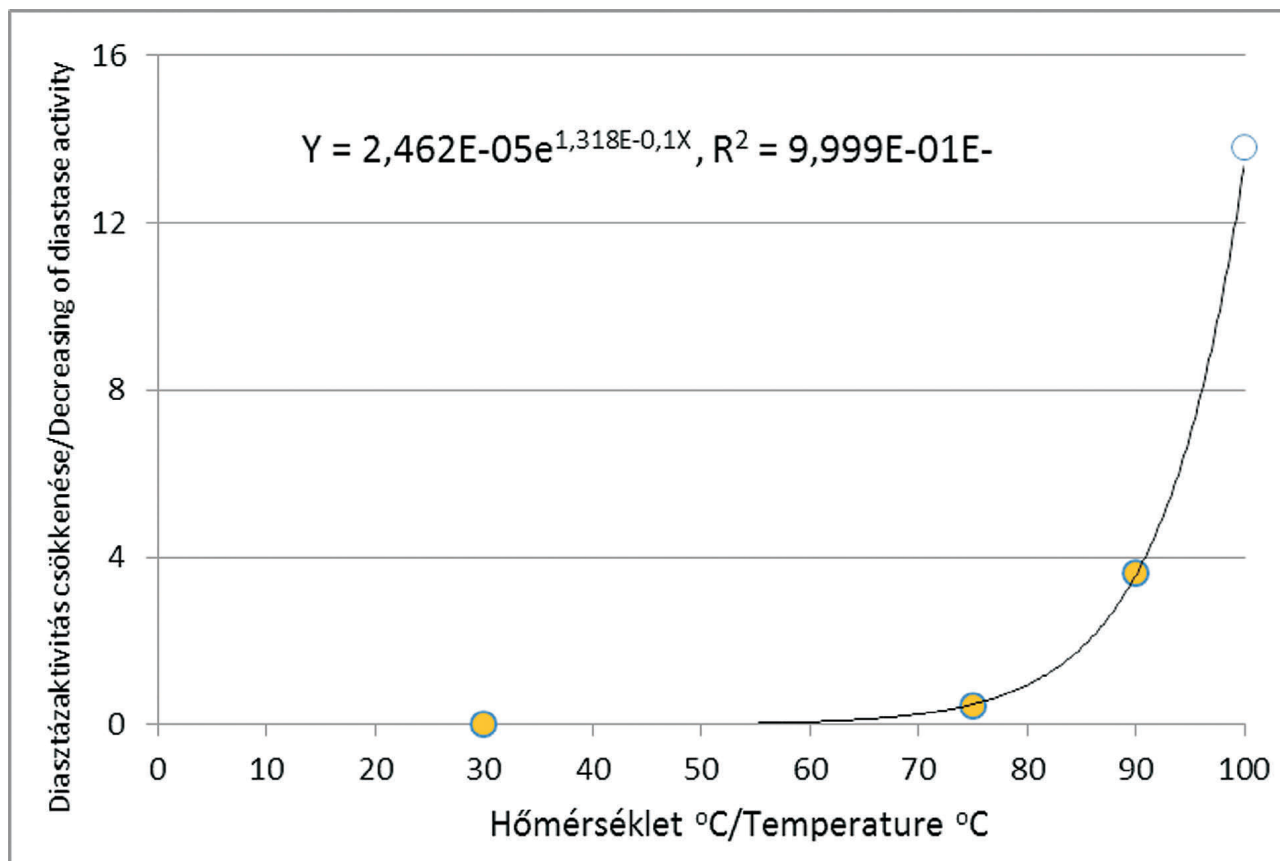
3.ábra A statikus diasztáz aktivitás változása 10 és 30 °C-on tárolt méz minta esetében a tárolási idő függvényében
 Figure 3 Alteration of static diastase activity of honey sample on 10 and 30 °C in the versus of storage time

A 30 °C-on tárolt, valamint a 75 és 90 °C-on hőkezelt méz mintákra kapott egyenesek iránytangenseit a hőmérséklet függvényében vettük fel, illetve görbét illesztettünk rá. A kapott összefüggés exponenciális jellegű volt. A kapott görbe alapján megbecsülhető egy adott hőmérsékleten tárolt-kezelt méz várható diasztázaktivitás-csökkenése óránként, amint az a **4. ábrán** is látható. Ebből kiszámítható, hogy egy adott diasztázaktivitású méz az alkalmazott tárolási-keze-

lési hőmérsékleten mennyi ideig felel meg a Magyar Élelmiszerkönyvben [5] előírt követelménynek. A görbét leíró egyenlet alapján megbecsülhető például, hogy egy 15-ös diasztázaktivitású (és egyben alacsony HMF tartalmú) méz 35 °C-on tárolva mintegy 200 napig tartja meg minőségét, 100 °C közelében pedig már 55 perces kezelés is végzetes hatású.



A kép illusztráció / The picture is illustration



4. ábra. A diasztáz aktivitás csökkenése óránként a tárolási-kezelési hőmérséklet függvényében
Figure 4 Decreasing of diastase activity in the versus of the temperature of storage and treatment

A mézben a tárolás illetve a hőkezelés hatására végbemenő folyamatok tehát a diasztázaktivitás alakulásának vizsgálatával is nyomon követhetők. A helytelen tárolás illetve feldolgozás hatására a méz diasztáz aktivitása akár a vonatkozó előírás által megengedett érték alá is csökkenhet.

4. Összefoglalás

A méz nem megfelelő tárolását illetve túlzott hőkezelését a diasztáz enzim aktivitásának csökkenése jelzi. Az enzim fehérje jellegének köszönhetően ez az aktivitáscsökkenés magasabb hőmérsékleten intenzívebb. A diasztáz károsodása – és így működőképességének csökkenése – már a hármész 75 °C-on történő kezelése során észrevehető volt, de 90 °C-on az enzim keményítőt bontó aktivitása néhány óra alatt teljesen megszűnt. A tárolási vizsgálat során is csökkent az enzim működése, de ez a csökkenés csak csekély mértékűnek bizonyult.

5. Irodalom / References

- [1] Amtmann, M. (2009): Különleges fajtamézek botanikai eredetének és illó komponenseinek összefüggése, Doktori értekezés, Budapesti Corvinus Egyetem, p. 131
- [2] Bentabol Manzanares, A., Hernández García, Z., Rodríguez Galdrón, B., Rodríguez Rodríguez, E., Díaz Romero, C. (2014): Physicochemical Characteristics of Minor Monofloral Honeys from Tenerife, Spain,

LWT - Food Science and Technology, 55 p. 572-578

[3] Czipa, N. (2010): Különböző eredetű mézek összehasonlító vizsgálata és a gyártmánykialakítás hatása a minőségre, Doktori értekezés, Debreceni Egyetem, p. 142

[4] Küçük, M., Kolaylı, S., Karaoğlu, Ş., Ulusoy, E., Baltacı, C., Candan, F. (2007): Biological Activities and Chemical Composition of three Honeys of Different Types from Anatolia, Food Chemistry, 100 p. 526-534

[5] Magyar Élelmiszerkönyv, 1-3-2001/110 számú előírása a mézről / Codex Alimentarius Hungaricus, 1-3-2001/110 Honey

[6] Moreira, R. F. A., De Maria, C. A. B., Pietrolungo, M., Trugo, L. C. (2007): Chemical Changes in the Non-volatile Fraction of Brazilian Honeys During Storage Under Tropical Conditions, Food Chemistry, 104 p. 1236-1241

[7] Özcan, M., Arslan, D., Ceylan, D. A. (2006): Effect of Inverted Sacharose on Some Properties of Honey, Food Chemistry, 99 p. 24-29

[8] Tosi, E., Ré, E., Lucero, H., Bulacio, L. (2004): Effect of Honey High-temperature Short-Time Heating on Parameters Related to Quality, Crystallisation Phenomena and fungal Inhibition, Lebensmittel Wissenschaft und Technologie, 37 p. 669-678

[9] Tosi, E., Martinet, R., Ortega, M., Lucero, H., Ré, E. (2008): Honey Diastase Activity Modified by Heating, Food Chemistry, 106 p. 883-887



A kép illusztráció / The picture is illustration

Németh Zsuzsanna¹, Holczhauzerné Faragó Judit¹, Gulyás Márta¹

Érkezett/Received: 2014. április/April – Elfogadva/Accepted: 2014. szeptember/September

Az élelmiszeriparban alkalmazott fertőtlenítőszeres mikrobiológiai hatásvizsgálata (2002-2013)

Kulcsszavak: élelmiszeripar, fertőtlenítőszeres mikrobiológiai hatásvizsgálata, fertőtlenítőszeres monitoring terve, ételfertőzések kivizsgálása

1. Összefoglalás

Az élelmiszeriparban alkalmazott fertőtlenítőszereseknek fontos szerep jut az élelmiszer eredetű megbetegedések megelőzésében. A fertőtlenítőszeres akkor fejtik ki optimálisan hatásukat, ha - a vizsgálatokkal igazolt - megfelelő koncentrációban, hőmérsékleten és hatásidevel alkalmazzák azokat. A tanulmány 12 év vizsgálati eredményeit foglalja össze, az engedélyezési eljáráshoz szükséges hatékonyságvizsgálat mellett bemutatja a forgalomban található fertőtlenítőszeres ellenőrzésének eredményeit, valamint bepillantást enged az ételfertőzési események kapcsán mintavételezett fertőtlenítőszeres hatásosságáról a gyakorlatban.

2. Bevezetés

Mivel az élelmiszer nemcsak az ember, de a mikrobák számára is kiváló tápanyag, ezért alapvető követelmény, hogy a gyártás különböző lépései során az élelmiszer ne szennyeződjön mikroorganizmussal. Az élelmiszer-előállítás területén alkalmazott fertőtlenítőszeresekkel kapcsolatban követelmény a baktericid és fungicid aktivitás biztosítása.

3. Anyag és módszer

Vizsgálatok – az MSZ EN 1276:2000 és az MSZ EN 1650:2000 szabványoknak megfelelően – 2002-ben kezdődtek az Országos Élelmezés-és Táplálkozástudományi Intézet (OÉTI) Élelmiszer-mikrobiológiai Főosztályán, ahol az élelmiszeriparban alkalmazni kívánt fertőtlenítőszeres engedélyezési eljárásához szükséges mikrobiológiai hatásvizsgálatok történtek.

4. Eredmények

Az első években (2003-2007) vizsgált szeres 70-80 %-a felelt meg a szabványok által előírt követelményeknek.

Az eredmények értékelése során egy quaterner-ammonium hatóanyagú kézfertőtlenítőszerrel a vizsgált minta minden lemezén pázsítszerű baktériumszennyeződés volt látható, ezért a szerből közvetlen kioltás történt (**1. ábra**), amely megerősítette azt a gyanút, hogy maga a készítmény baktériummal (*P. aeruginosa*) szennyezett.



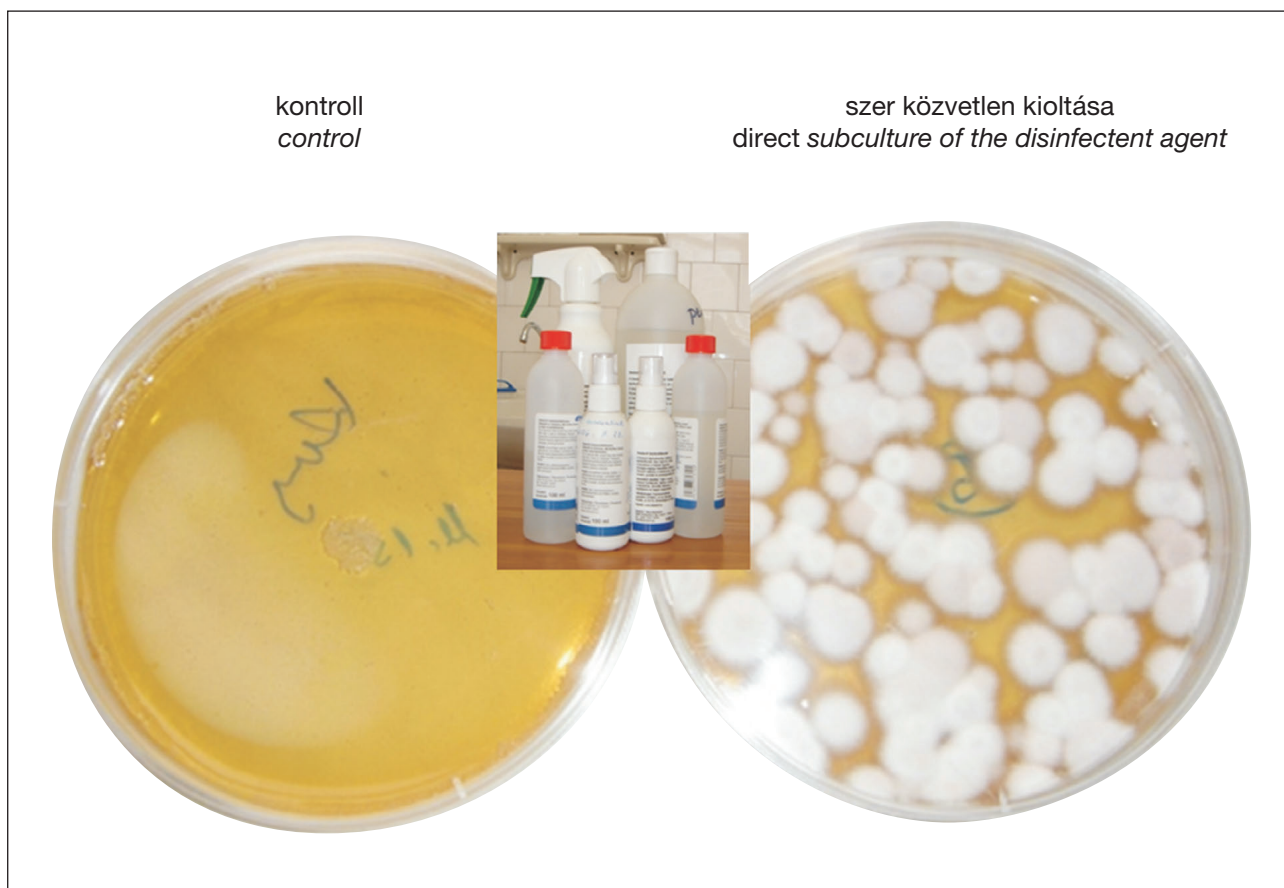
1. ábra Baktériummal szennyezett kézfertőtlenítőszer
Figure 1 Hand sanitizer with bacterial contamination

¹ NÉBIH-ÉTBI Élelmiszer Mikrobiológiai Nemzeti Referencia Laboratórium

¹ NÉBIH-ÉTBI Food Microbiology National Reference Laboratory

A vizsgálatok másik érdekes megfigyelése, hogy az egyik kézfertőtlenítőszer vizsgálata során a lemezen a 48-72 órás leolvasást követően túszúrásnyi méretű, az alkalmazott tesztörzsektől eltérő telepek fejlődtek ki, ezért a készítményből közvetlen kioltás történt. A kioltás eredményeként az 5-6. napon a lemezeken szintenyészetben penész szerű képződmé-

nyek (**2. ábra** jobb oldali kép) fejlődtek ki. Ezt követően a beküldő - az adott hatóanyagokból 5 különböző beszállítású készítményt hozott (**2. ábra** középső kis kép), amelyek fertőzöttsége szintén hasonló volt. A megrendelő ezek után egy külföldi laboratóriumban is ellenőriztette a készítményt, amely szintén igazolta a szer fertőzöttségét, így az nem került forgalomba.



2. ábra Sorozatosan szennyezett kézfertőtlenítőszer minták
Figure 2 Serially contaminated hand sanitizer samples

Az élelmiszerbiztonsági rendszer 2007-ben történt átszervezésével az élelmiszeriparban alkalmazott fertőtlenítőszer mikrobiológiai hatásvizsgálata átkerült a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatalhoz (illetve annak jogelődjéhez). Feladatkörünk 2009 óta az élelmiszeriparban alkalmazott fertőtlenítőszer monitoring programjával, 2011 óta pedig az ételfertőzési események kivizsgálása kapcsán beküldött fertőtlenítőszer mikrobiológiai hatásvizsgálatával bővült.

A fertőtlenítőszer monitoring programja keretében a kereskedelmi forgalomból származó, bontatlan csomagolású fertőtlenítőszer kerülnek vizsgálatra.

4.1. A monitoring program keretében beküldött fertőtlenítőszer minták mikrobiológiai hatásvizsgálata

A monitoring program keretében mintavételezett, élelmiszeriparban alkalmazott fertőtlenítőszer mikrobiológiai hatásvizsgálatának adatait a **3. ábra** mutatja be.

Testing of the microbiological efficiency of disinfectants used in the food industry (2002-2013)

Zsuzsanna Németh¹, Judit Holczhauzerné Faragó¹, Márta Gulyás¹

Keywords: food industry, testing of microbiological efficiency of disinfectants, monitoring plan of disinfectants, investigation of food infections

1. Summary

Disinfectants used in the food industry play an important role in preventing foodborne diseases. They can perform to their fullest potential if they are applied in the proper concentration, at the proper temperature, for the proper contact time, as determined by preliminary studies. This paper summarizes the test results of 12 years and, in addition to the efficiency testing necessary for the licensing procedure, it also presents results of control tests of commercially available disinfectants, and provides insight into the efficiency in practice of disinfectants sampled in connection with food infection cases.

2. Introduction

Since food is an excellent source of nutrients not only to humans, but also to microbes, it is an essential requirement for foods not to become contaminated with microorganisms during the steps of their manufacture. Disinfectants used during food production are expected to possess bactericidal and fungicidal effects.

3. Materials and methods

Testing – according to standards MSZ EN 1276:2000 and MSZ EN 1650:2000 – started in 2002 at the Department of Food Microbiology of the National Institute for Food and Nutrition Science (OÉTI), where microbiological efficiency testing necessary for the licensing procedure of disinfectants to be used in the food industry was performed.

4. Results

In the first few years (2003-2007), 70 to 80% of the agents tested satisfied the requirements prescribed by the standards.

When evaluating the results of a hand sanitizer, with a quaternary ammonium active ingredient, a turf-like bacterial contamination was observed on all plates of the sample tested, therefore, direct inoculation was performed (**Figure 1**), proving the suspicion that the product itself had a bacterial contamination (*P. aeruginosa*).

Another interesting observation was that, during testing of a hand disinfectant, pinprick sized colonies that were different from the test strains developed on the plates after 48-72 hours, therefore, direct inoculation was performed in this case as well. As a result of the inoculation, mold-like organisms developed on the plates in pure cultures on the 5th-6th day (**Figure 2**, picture on the right). Following this, products from 5 different batches were provided by the supplier (**Figure 2**, small picture in the middle), which all showed similar contamination. Control tests were then performed on the product in a foreign laboratory at the request of the customer, and the results confirmed contamination of the product, which was then not marketed.

After reorganization of the food safety system in 2007, testing of the microbiological efficiency of disinfectants used in the food industry was transferred to NÉBiH (or rather to its predecessor). Our scope of duties was extended in 2009 to include monitoring programs of disinfectants used in the food industry, and in 2011 to include testing of the microbiological efficiency of disinfectants provided in connection with investigations of food infection cases.

In the monitoring program of disinfectants, unopened packages of commercially available disinfectants are tested.

4.1. Microbiological efficiency testing of disinfectant provided in the monitoring program

Microbiological efficiency testing data of disinfectants used in the food industry and sampled in the monitoring program are shown in **Figure 3**.

According to their use, disinfectants can be classified into three groups (surface disinfectants, hand sanitizers and disinfectant dishwashing liquids). On average, hand sanitizers tested in the monitoring program over the last 5 years have been adequate, both in terms of bactericidal and yeasticidal activity, while the bactericidal and fungicidal/yeasticidal activities of surface disinfectants and disinfectant dishwashing liquids were around 90% (**Figure 3**). The annual number of samples received has been increasing constantly, the planned sample number of disinfectants in the 2014 monitoring plan is 70.

4.2. Testing of microbiological efficiency of disinfectants in connection with food infections

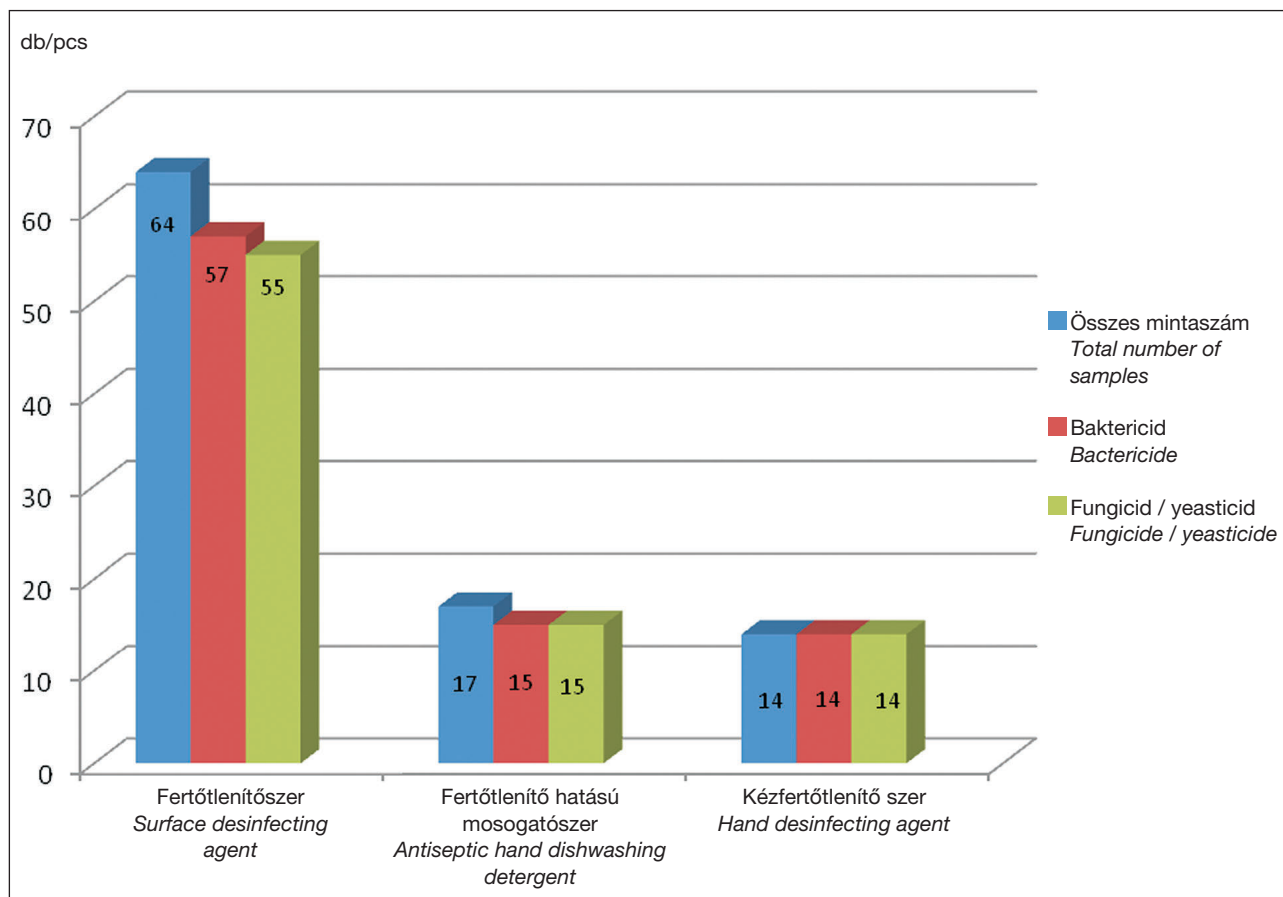
If food infection is suspected, open packages of disinfectant samples found on-site are sent by the sampling authority – in order to assess their microbiological efficiency – to the Food Microbiology National Reference Laboratory. If the open product is objectionable, then – to investigate the reason for its objectionability – the original disinfectant in unopened package is sent – again, to assess its efficiency – to the laboratory.

In connection with food infections, mainly hand sanitizers and disinfectant dishwashing liquids have been sent in. Compared to the tests performed in the monitoring program, the analytical sample number of surface disinfectants was lower.

Based on the data, objectionability of hand sanitizers and disinfectant dishwashing liquids is significant, both in terms of microbiological efficiency and also their bacterial infection, which can be traced to the insufficient efficiency of the products (e.g. active ingredient combination, or incorrect determination of the contact time or the application concentration), or their incorrect use (application of incorrect concentration, refilling in contaminated bottles). The problem can be further exacerbated by the inappropriate preparation and storage of the working solution.

Graphical representation of the products tested in connection with food infections is shown in **Figure 4**.

Unfortunately, of the 60 products, 9 (15.0%) showed bacterial contamination, and in the case of 2 products (a disinfectant dishwashing liquid and a hand sanitizer), bacterial contamination was detected even in the unopened package of the sample, which is illustrated by the **Figure 5**.



3. ábra Fertőtlenítőszer monitoring vizsgálata (2009-2013)
Figure 3 Monitoring of disinfectants (2009-2013)

A fertőtlenítőszer felhasználásuk szerint 3 csoportra oszthatók (felületfertőtlenítő szerek, kézfertőtlenítőszer ill. fertőtlenítő hatású mosogatószer). Az elmúlt 5 év átlagában a monitoring program keretében vizsgált kézfertőtlenítőszer mind baktericid, mind yeasticid aktivitás szempontjából megfelelőnek bizonyultak, míg a felületfertőtlenítő szerek és a fertőtlenítő hatású mosogatószer baktericid, ill. fungicid/yeasticid aktivitása 90 % körül alakult (**3. ábra**). Az évente beérkező mintaszám fokozatosan emelkedő tendenciát mutat, a 2014. évi Monitoring terv keretében a tervezett fertőtlenítőszer mintaszám 70.

4.2. Fertőtlenítőszer mikrobiológiai hatásvizsgálata az ételfertőzések kapcsán

Ételfertőzés gyanúja esetén a mintavevő hatóság a helyszínen található, bontott csomagolású fertőtlenítőszer-mintákat – mikrobiológiai hatékonyság vizsgálata céljából – beküldi az Élelmiszer Mikrobiológiai Nemzeti Referencia Laboratóriumba. Amennyiben a bontott készítmény kifogásolt, akkor – a kifogásoltság okának kivizsgálása végett – az eredeti, bontatlan csomagolású fertőtlenítőt küldik be a labora-

tóriumba abból a célból, hogy annak hatékonyságát ismételtlen meghatározassák.

Az ételfertőzések kapcsán főleg kézfertőtlenítőszeret és fertőtlenítő hatású mosogatószeret küldtek be. A monitoring program vizsgálataihoz képest a felület fertőtlenítőszer vizsgálati mintaszáma alacsonyabb volt.

Az adatok alapján a kézfertőtlenítőszer és fertőtlenítő hatású mosogatószer kifogásoltsága mind a mikrobiológiai hatékonyság, mind baktériumokkal való szennyezettség szempontjából jelentős, ami visszavezethető a készítmények nem megfelelő hatékonyságára (pl. hatóanyag kombináció, a behatási idő, illetve az alkalmazási koncentráció helytelen meghatározása), illetve azok helytelen felhasználására (rossz szerkoncentráció alkalmazása, szennyezett flakonba történő utántöltés). A problémát tovább súlyosbíthatja, ha a munkaadatokat nem megfelelően készítik elő és tárolják.

Az ételfertőzés kapcsán vizsgált szerek grafikonos ábrázolása az **4. ábrán** látható.

The hand sanitizer that was tested in 2012 and was contaminated with *Pseudomonas* sp. was marketed under the same name as the objectionable hand sanitizer from 2004, which was the first one in which *Pseudomonas* sp. was detected as a contaminating microorganism (see **Figure 1**).

According to the relevant literature, characterization and health risks of bacteria cultured from disinfectants are as follows:

Pseudomonas species occur widely in the environment, and they participate in the formation of biofilms, promoting long-term colonization by other pathogenic microorganisms, for example, on surfaces coming into contact with foods or in different pipelines (such as plumbing). Resistance against the usual concentrations of quaternary ammonium compounds is quite frequent [1]. In our study we also found that, of the strains prescribed in the standard, this is the most resistant one to disinfectants.

Since hand sanitizers authorized for use in the food industry – with the proper license – can also be applied in health care, therefore, in the case of contaminated disinfectants, there is a risk of nosocomial infections caused by *Pseudomonas*, which, in the case of reduced immunity, such as following organ transplant surgeries, catheter insertion or the use of breathing equipment, can lead to even fatal infections.

Serratia marcescens grows well in environments containing phosphorus (soaps, shampoos), and can be the pathogenic agent of different nosocomial diseases (sepsis, endotoxic shock, endocarditis, meningitis, infections of the respiratory tract, the urinary tract or wounds). There are also reports on the increasing antibiotic resistance of *Serratia marcescens* in the literature [1].

4.3. Survival of microbes in contaminated disinfectants

Samples of disinfectants contaminated with bacteria have been preserved from 2012. In April 2014, repeat inoculations were performed from the products stored (5 different hand sanitizers and 4 different disinfectant dishwashing liquids). Survival of bacteria was observed in all 9 cases, which draws even more attention to the fact that **if a disinfectant becomes contaminated with bacteria either due to improper manufacture or storage, its health effects have to be reckoned with in the long run.** Therefore, special attention has to be paid to hot water rinsing of refillable bottles before refilling, in order to eliminate (non-spore-forming) microorganisms possibly present in the products.

5. Conclusions

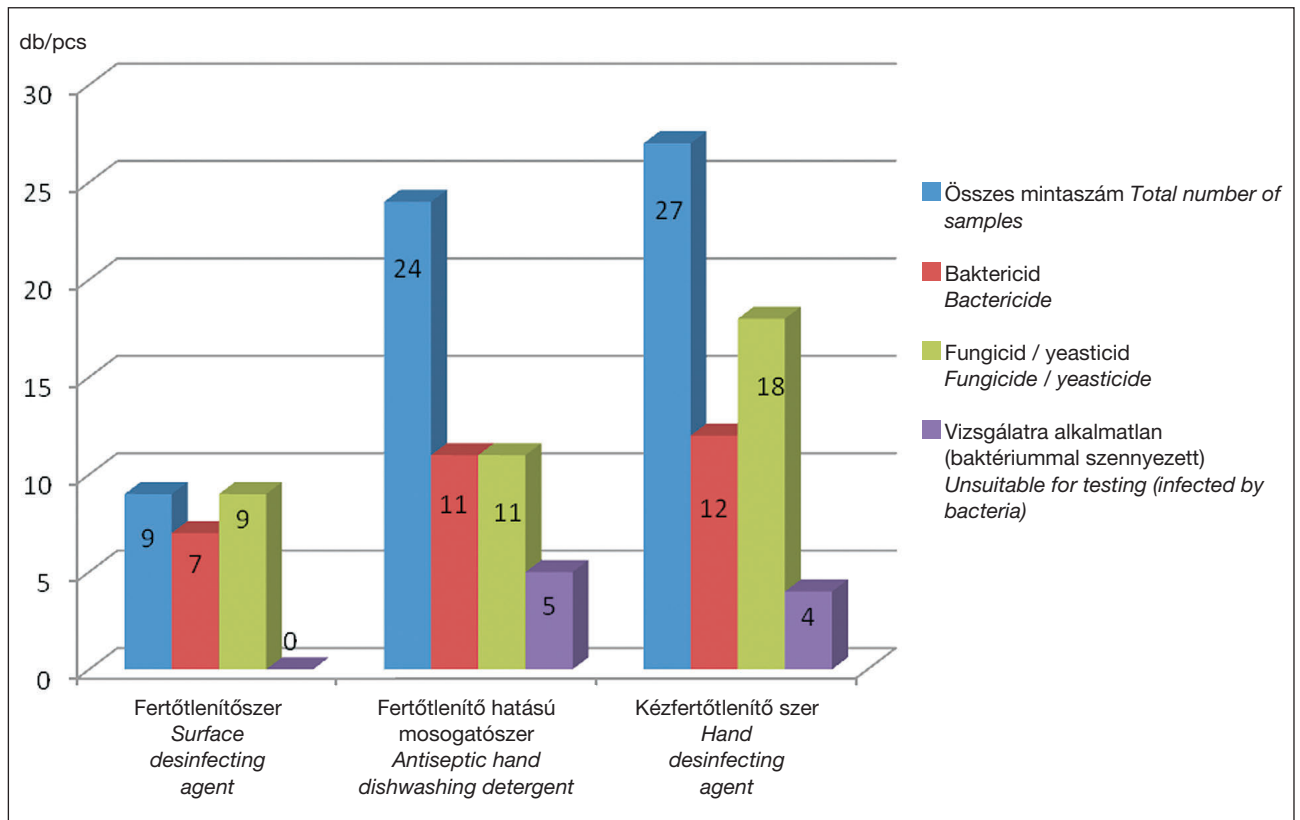
Over the last five years, on average, 90% of commercially available disinfectants used in the food industry proved to be satisfactory in terms of microbiological efficiency. In the case of disinfectants tested in connection with food infections, almost half of the products did not satisfy microbiological requirements, suggesting that the efficiency of disinfectants deteriorates significantly due to improper use and storage. Improperly manufactured, diluted and stored agents can become contaminated with microflora, which can remain viable and can pose public health risks for longer periods (1 to 1½ year).

6. Acknowledgement

We would like to express our thanks to our colleagues participating in the tests, including Jánosné Németh and Judit Holczhauzerné Faragó.



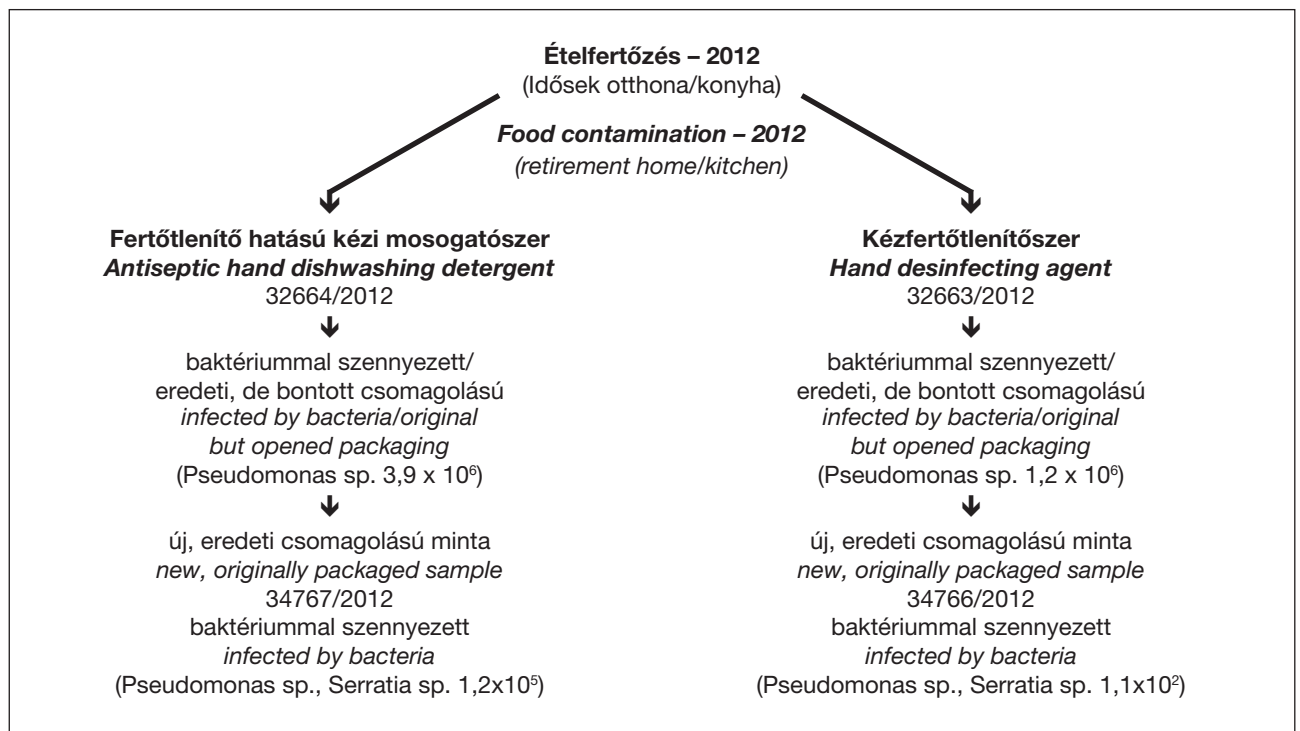
A kép illusztráció / The picture is illustration



4. ábra Étel fertőzések kapcsán vizsgált fertőtlenítőszer (2011-2013)
Figure 4 Disinfectants tested in connection with food infections (2011-2013)

Sajnálatos módon a 60 készítmény közül 9 (15,0 %) bakteriális szennyezettséget mutatott, 2 készítmény esetében (egy fertőtlenítő hatású mosogatószer és

egy kézfertőtlenítőszer) a bontatlan csomagolásban beérkezett mintákból is kimutattuk a bakteriális szennyezettséget, amelyet az **5. ábra** szemléltet.



5. ábra Mosogatószerből és kézfertőtlenítőszerből kimutatott baktériumok (2011-2013)
Figure 5 Detected bacteria from dishwashing and hand disinfecting agent (2011-2013)

A 2012-ben vizsgált, *Pseudomonas sp.*-vel szennyezett kézfertőtlenítőszer ugyanazon néven forgalmazott, mint a 2004-ben kifogásolt kézfertőtlenítőszer, amelyből először lett kimutatva a *Pseudomonas sp.*, mint szennyező mikroorganizmus (**lásd 1. ábra**).

A szakirodalom szerint a fertőtlenítőszerekből kitevnyesztett baktériumok jellemzése és azok egészségügyi kockázata a következő:

A *Pseudomonas* fajok a környezetben széles körben előfordulnak, és részt vesznek a biofilmek kialakításában, elősegítve ezzel egyéb kórokozó mikroorganizmusok tartós megtelepedését például az élelmiszerekkel érintkező felületeken, különböző vezetékekben (vízvezeték). Gyakran előfordul rezisztencia a kvaterner ammónium vegyületek szokásos koncentrációjával szemben [1]. Vizsgálataink során mi is tapasztaltuk, hogy a szabványban előírt baktérium törzsek közül ez a legellenállóbb a fertőtlenítőszerekkel szemben.

Mivel az élelmiszeripari felhasználásra engedélyezett kézfertőtlenítőszeres – engedély birtokában – az egészségügyben is alkalmazhatóak, ezért – szennyezett fertőtlenítőszeres esetében – fennállhat a *Pseudomonas* okozta nosocomiális fertőzések kockázata, amely csökkent immunitás esetén – szerv transzplantációs műtétek, katéter behelyezés, ill. lélegeztető gépek alkalmazását követően – akár halálos kimenetelű fertőzést is okozhat.

A *Serratia marcescens* jól fejlődik foszfor tartalmú környezetben (szappanok, samponok), és különböző nosocomiális betegségek (sepsis, endotoxin shock, endocarditis, meningitis, légúti, húgyúti és sebfertőzések) kórokozója lehet. A szakirodalom [1] beszámol a *Serratia marcescens* fokozódó antibiotikum rezisztenciájáról is.

4.3. A mikrobák túlélése a szennyezett fertőtlenítő szerekben

A baktériumokkal szennyezett fertőtlenítőszer-mintákat 2012-től megőrizzük. 2014 áprilisában a tárolt készítményekből (5 különböző kézfertőtlenítőszer és 4 különböző fertőtlenítő hatású mosogatószer) ismételt kioltások történtek. A baktériumtúlélés mind a 9 esetben tapasztalható volt, amely még fokozottabban hívja fel a figyelmet arra, hogy **ha a helytelen gyártás, vagy tárolás során a fertőtlenítőszer baktériummal szennyeződik, annak egészségügyi kihatásával hosszabb távon kell számolni**. Ezért az utántöltős flakonoknál – az utántöltés előtt – fokozottan kell ügyelni a flakonok forró vizes kiöblítésére, hogy a szerekben esetlegesen előforduló (nem spóras) mikroorganizmusokat elimináljuk.

5. Következtetések

A kereskedelmi forgalomból származó – az élelmiszeriparban alkalmazott fertőtlenítőszeres – vonatkozásában az elmúlt 5 év átlagában – a mikrobiológiai hatékonyság szempontjából – a szerek 90 %-a bizonyult megfelelőnek. Étel-fertőzés kapcsán vizsgált fertőtlenítőszeres esetén a készítmények közel fele nem felelt meg a mikrobiológiai előírásoknak, ami arra enged következtetni, hogy a fertőtlenítőszeres hatékonysága a nem megfelelő alkalmazás és tárolás következtében jelentősen romlik. A helytelenül gyártott, hígított és tárolt szerek mikroflórával szennyeződhetnek, amelyek hosszabb ideig (1-1½ év) is életképesek maradhatnak és közegészségügyi szempontból veszélyt jelenthetnek.

6. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnénk köszönetet mondani a vizsgálatokban résztvevő kollégáknak, köztük Németh Jánosnénak és Holczhauzerné Faragó Juditnak.

7. Irodalom / Reference

[1] É Czirók (1999): Klinikai és járványügyi bakteriologia Kézikönyv 387, 410-411



A kép illusztráció / The picture is illustration



A kép illusztráció / The picture is illustration

Barna Sarolta¹ – Kasza Gyula² – Bódi Barbara²

Érkezett/Received: 2014. március/March – Elfogadva/Accepted: 2014. szeptember/September

Fogyasztói kutatások az élelmiszerlánc-felügyelet szolgálatában

1. Összefoglalás

Az élelmiszerlánc-biztonság felügyelete jelentős változáson esett át a rendszerváltozást követő csaknem két és fél évtizedben. A nemzetközi kereskedelem kibontakozásával mindinkább komplex folyamattá vált az élelmiszerbiztonság fenntartása, ugyanakkor a célzott, egész élelmiszerláncra kiterjedő monitoring programok által könnyebben azonosíthatók, s egyben elkerülhetők a lehetséges kockázatok.

A hatékony módszertani és intézményi fejlesztések mellett a fogyasztókkal történő együttműködés jelentősége is felértékelődött.

Magyarország időben ismerte fel, hogy lépnie kell ebben a kérdésben, amely tetten érhető a lakosság élelmiszerbiztonsági tudatosságának javulásában, a hatóság munkájának és ezen keresztül a magyar élelmiszerek biztonságának pozitív megítélésében. Hazánkban élelmiszerbiztonsággal kapcsolatos személyes megkérdezéseket már a 2000-es évek elején is végeztek nem standardizált módon.

A Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal 2012-ben indította el saját vizsgálatát az élelmiszerbiztonsággal kapcsolatos fogyasztói kockázatészleléssel és kockázat elkerülési magatartással kapcsolatban, amelyet azóta standardizált módszertannal, évi két alkalommal megismétel. Ezek az adatok pontos visszajelzést jelentenek a szakpolitikai döntés-előkészítés számára, amely nagyban elősegíti az Élelmiszerlánc-biztonsági stratégia 2013-2022 célkitűzéseinek hatékony megvalósítását. A közleményben e kutatássorozat eredményeiből mutatunk be néhány elemet.

2. Változó kihívások

Az élelmiszerlánc-biztonság felügyelete jelentősen megváltozott a rendszerváltozást követő csaknem két és fél évtizedben. A korábbi eszközeink részben elvesztek (önálló nemzeti szabályozási keretek, importellenőrzések), részben pedig a bekövetkező társadalmi változások hatására kellett megváltoztatnunk őket (vállalkozás szabadságának kiterjesztése, áruválaszték dinamikus bővülése, áruforgalom globalizálódása). A tételes vizsgálatok és véletlenszerű szűrőpróbák helyét a kockázatelemzés vette át, amelynek legfontosabb célja az erőforrások maximális hatékonyságú felhasználása az élelmiszerlánc biztonsága érdekében. Az intelligens ellenőrzési tervek és monitoring megjelenése mellett szintén fontos volt, hogy a teljes élelmiszerláncra kiterjedő nyomon-

követéssel lehetővé tegyük az élelmiszerlánc-események okainak és kiterjedésének pontos meghatározását, elősegítsük a károk mérséklését és fejlesszük a korai észlelési, megelőzési képességeinket.

A módszertani és intézményi fejlesztések azonban önmagukban nem elegendők, szemléletváltásra és partnerekre is szükségünk van, hiszen évről évre nő a feladataink száma, összetettsége. A tisztességes vállalkozások és a tudatos fogyasztók személyében keresünk partnereket. Közös érdekünk, hogy kiszoruljanak a piacra azok a termékek, amelyek a fogyasztók egészségét veszélyeztetik, a magyar élelmiszer-gazdaság szereplőit rossz színben tüntetik fel, vagy gazdasági hátrányba hozzák azokat a cégeket, amelyek a közterhek megfizetése mellett, a hatóság számára átláthatóan, nyomonkövethetően igyekeznek boldogulni a piacon.

¹ NÉBIH Kockázatértékelési Igazgatóság

² Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, Élelmiszeripari Gazdaságtan Tanszék

¹ National Agency for Food Safety, Directorate of Risk Assessment

² Budapesti Corvinus University, Faculty of Food Sciences, Department of Food Industrial Economy

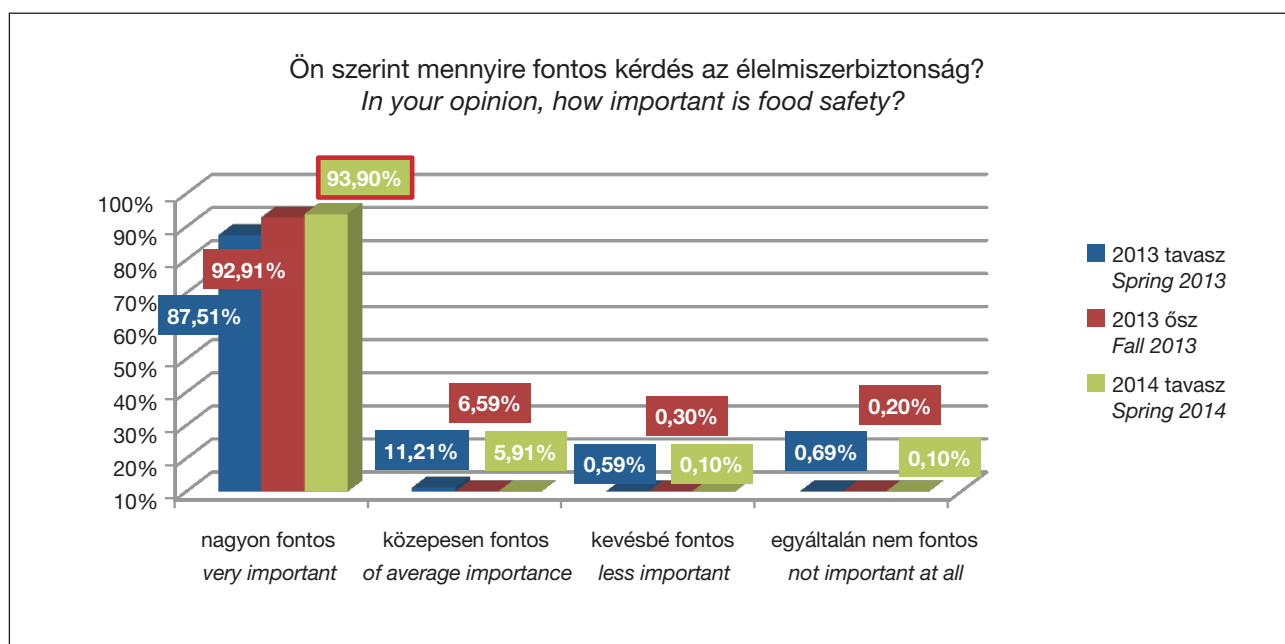
A fogyasztók szerepe az élelmiszerlánc biztonsága szempontjából kulcskérdés. Az élelmiszer ugyanis olyan bizalmi termék, amelynek pontos összetétele, élelmiszer-biztonsági kockázata még szaktudás birtokában is nehezen állapítható meg. Ez a terep azoknak is ideális, akik saját vagy versenytárs termékekről valótlan állítanak, esetleg rémhírekkel keltetik figyelmet maguk iránt. Mindezek miatt szükség van egy független szereplőre, amely képes gyors, hiteles tájékoztatást nyújtani a fogyasztók számára fontos ügyekben, valamint kockázat-megelőzési szerepet is betölt.

Hazánkban az élelmiszer-biztonsággal kapcsolatos fogyasztói felmérések egészen a 2000-es évek elejéig nyúlnak vissza. Kezdetben nem standardizált módon folytak a kutatások, így valódi idősoros eredményekről nem tudunk beszámolni. Az élelmiszerlánc-felügyeleti szolgálat először 2012-ben végzett ilyen típusú kutatást annak érdekében, hogy realitás képet kapjon a magyar fogyasztók élelmiszerbiztonsági tudatosságáról, kockázat-elkerülési magatartásáról, valamint a szakterületen érintett állami intézmények ismertségéről, munkájuk megítéléséről. A vizsgálatot az ország lakosságát jól reprezentáló 1000 válaszadó

bevonásával, évente két alkalommal ismételtük meg. Ez a felmérési sűrűség lehetőséget teremt arra is, hogy értékelni tudjuk az aktuális élelmiszerlánc-eseményekre adott fogyasztói reakciókat. Bár a kérdőívet folyamatosan fejlesztjük, már az első kutatásnál arra törekedtünk, hogy az adatokat évről évre összehasonlíthatóvá tegyük. Ezt a szempontot érvényesítettük mind a felmérésekben használt kérdések összeállításakor, mind a mintavételi eljárás megtervezésekor. Írásunkban e vizsgálatok eredményeiből mutatunk be néhány elemet.

3. Élelmiszerlánc-biztonság fogyasztói szemmel

A magyar fogyasztók számára az élelmiszer-biztonság kiemelt fontosságú terület. A legutóbbi, 2014 nyarán lezárult felmérésünkben a válaszadók csaknem 94%-a vélekedett így (**1. ábra**). Bár a fogyasztók véleménye meglehetősen homogén a kérdéskört tekintve, a válaszadók életkorát és nemét illetően is statisztikailag igazolható szignifikáns különbségeket találtunk: a megkérdezettek közül a nők nagyobb arányban tartják fontos területnek az élelmiszer-biztonságot, s az életkor előrehaladtával szintén erőteljesebb egyetértés mutatkozik ebben a tekintetben.



1. ábra: Fogyasztói vélemények az élelmiszerbiztonság társadalmi jelentőségéről
Figure 1: Consumer opinion on the social significance of food safety

Természetesen lényeges kérdés, hogy mihez mérjük a szakterület fontosságát. Éppen ezért arra kértük a válaszadókat, hogy 1-től 5-ig terjedő skálán osztályozzák a 2. ábrán felsorolt állami feladatkörök jelen-

tőségét. A magasabb érték a nagyobb jelentőséget jelöli. A teljes felmérés adatait az 1. táblázat tartalmazza.

Consumer research in the service of food chain safety supervision

Sarolta Barna¹ – Gyula Kasza² – Barbara Bódi²

1. Summary

There have been significant changes in food chain safety supervision in the two and a half decades following the regime change. With the development of international trade, maintaining food safety became an increasingly complex procedure, however, by using targeted monitoring programs extending to the whole food chain, possible risks are more easily identified and become easier to avoid. In addition to efficient methodological and institutional developments, the significance of cooperation with consumers increased as well. It was recognized in time by Hungary that steps needed to be taken in this area, and the result of these steps was an improved food safety consciousness on the part of the population, and also a more positive opinion about authority activities and, through this, the safety of Hungarian foods. Personal interviews related to food safety were already conducted in Hungary in the early 2000s, in a non-standardized way.

The National Food Chain Safety Office launched its own investigation related to consumer risk perception and risk avoidance behaviour related to food safety in 2012, which has been repeated since twice a year, using a standardized methodology. These data provide precise feedback for the preparation for policy decisions, facilitating greatly the effective implementation of the objectives of the Food Chain Strategy 2013-2022. A few elements of the results of this series of research are presented in the current paper.

2. Changing challenges

The supervision of food chain safety surveillance has changed significantly in the almost two and a half decades following the regime change. Some of our earlier tools were lost (independent national regulatory frameworks, import controls), and others had to be changed due to the social changes taking place (extension of enterprise freedom, dynamic product range expansion, globalization of trade). Itemized analyses and random samplings were replaced by risk assessment, whose main objective is to achieve maximum efficiency in the use of resources in order to ensure food chain safety. In addition to the appearance of intelligent control plans and monitoring, it was also important to make it possible to determine precisely the causes and the extent of food chain events by tracing that extend to the complete food chain, to facilitate damage control, and to improve our early detection and prevention capabilities.

However, methodological and institutional developments alone are not enough we need a change in attitude and partners, since the number and the complexity of our tasks increases every year. We look for partners among reputable entrepreneurs and conscious consumers. It is in our common interest to remove those products from the market that endanger consumer health, shed bad light on members of the Hungarian food economy, or are a source of economic disadvantage for companies that are paying their public dues and are trying to operate in a way that is transparent and traceable for the authorities. Consumers play a key role in the safety of the food chain. This is true because food is a product of trust, whose exact composition and its food safety risk is hard to determine, even for people possessing the necessary professional knowledge. This field is ideal

for those who provide false statements about their own or the competitor's product, or draw attention to themselves by spreading false rumours. For these reasons, it is necessary to have an independent entity, who can provide fast and credible information on matters important to consumers, and who can also play a risk prevention role.

Consumer surveys on food safety in Hungary go back to the early 2000s. In the beginning, research was not conducted in a standardized way, so real time-series data cannot be reported. This type of research was first performed by the food chain supervision service in 2012, in order to obtain a realistic picture about the food safety consciousness of Hungarian consumers, their risk avoidance behaviour, and about the recognition of state institutes in the professional field, and the opinion on their work. The study is repeated twice a year, involving 1000 respondents representing the population of the country well. This survey frequency also creates an opportunity to evaluate consumer reactions to current food chain events. Although the questionnaire is being developed continuously, even on the first occasion, our goal was to obtain data that are comparable from year to year. This aspect was kept in mind when compiling the questions to be used in the survey, and also when planning the sampling procedure. A few elements of the results of these tests are presented in the current paper.

3. Food chain safety in the eyes of the consumers

Food safety is an area of utmost importance for Hungarian consumers. This was the opinion of almost 94% of respondents in our latest survey, concluded in summer 2014 (**Figure 1**). Although consumer opinion on this topic was rather homogeneous, statistically verifiable, significant differences were found according to the age and gender of the respondents: of the people questioned, a higher proportion of women considered food safety an important area, and a stronger agreement was also observed with increasing age.

Of course, it is a relevant question what the importance of the professional field is compared to. That is why respondents were asked to indicate, on a scale of 1 to 5, the significance of the state functions listed in **Figure 2**. Higher values indicate greater importance. The results of total survey are listed in the **table 1**.

Current food chain events are usually reflected in consumer opinions related to food safety, and impressions recorded during the surveys provide a complex picture about the behaviour of the authority in the given situation. When assessing food chain safety, positive changes were observed by more than one third of respondents, while less than 10% reported unfavourable trends (**Figure 2**). It must be emphasized that the number of consumers experiencing an improvement in the area of food safety (34.75%) increased significantly, compared to the data from one year ago (25.25%), while the number of dissatisfied people decreased to a similar extent.

4. How do we try to protect ourselves against food safety risks?

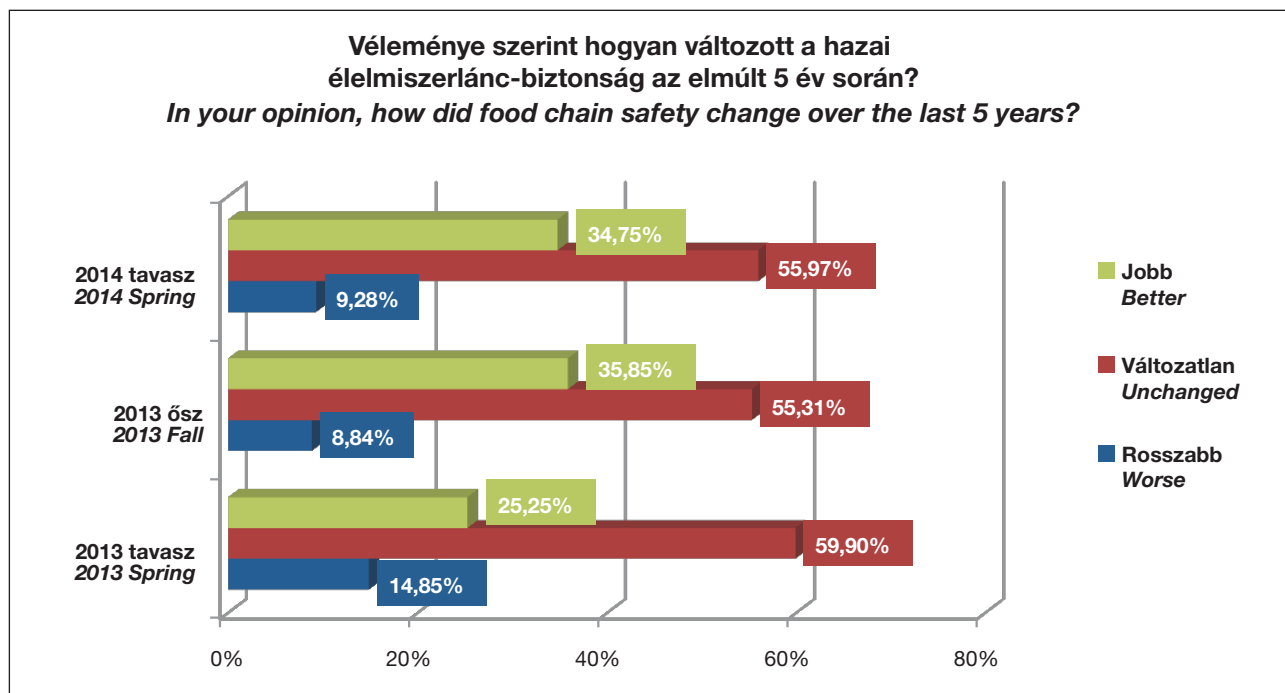
Naturally, all consumers try to protect themselves somehow. The roles of different decision making aspects, in the order of consumer risk identification, are illustrated graphically in **Figure 3**. According to the **Figure 3**, purchasing decisions are made more consciously by female consumers than by male ones, and it is considered more important by older respondents to be well-informed in the questions of food safety. They stick more and more to the same stores with increasing age, however, they are less loyal to certain brands or manufacturers.

1. táblázat: A teljes felmérés adatai
Table 1: The results of total survey

Ön szerint mennyire fontosak az alábbi területek? In your opinion, how important are the following areas?						
	2013 tavasz Spring 2013		2013 ősz Fall 2013		2014 tavasz Spring 2014	
	átlag/AVG	szórás/RSD	átlag/AVG	szórás/RSD	átlag/AVG	szórás/RSD
Egészségügy Health care	4,76	0,73	4,86	0,55	4,85	0,55
Élelmiszerbiztonság Food safety	na.	na.	4,79	0,63	4,80	0,60
Közrendvédelem Protection of civil order	4,40	0,97	4,64	0,73	4,53	0,83
Katasztrófavédelem Disaster management	4,35	0,94	4,58	0,76	4,48	0,85
Fogyasztóvédelem Consumer protection	4,42	0,90	4,56	0,74	4,47	0,83
Munkavédelmi hatóság Occupational safety authority	4,15	0,98	4,40	0,83	4,33	0,90
Pénzügyi felügyelet Financial supervisory authority	4,21	1,00	4,37	0,90	4,26	0,98

Az élelmiszer-biztonsággal kapcsolatos fogyasztói véleményekben általában visszatükröződnek az aktuális élelmiszerlánc-események, s a felmérések során rögzített benyomások átfogó képet szolgáltatnak a hatóság adott helyzetben történő helyállásáról is. Az élelmiszerlánc biztonságának megítélése során a válaszadók több mint egyharmada pozitív változások

kat észlelt, miközben kevesebb, mint 10% számolt be kedvezőtlen folyamatokról (2. ábra). Kiemelendő, hogy az egy évvel ezelőtti adatokhoz (25,25%) viszonyítva határozottan nőtt az élelmiszerlánc-biztonság területén javulást tapasztaló fogyasztók száma (34,75%), miközben az elégedetlenekek arányában csökkent.



2. ábra: Fogyasztói vélemények az élelmiszerlánc-biztonság változásáról
Figure 2: Consumer opinion on the change in food chain safety

4. Hogyan próbáljuk megvédeni magunkat az élelmiszer-biztonsági kockázatoktól?

Természetesen minden fogyasztó igyekszik valamilyen módon megvédeni magát. A 3. ábra szemléletesen mutatja be az egyes döntési szempontok szerepét a fogyasztói kockázatesztelés szerinti sorrendben. A

női fogyasztók eszerint vásárlási döntéseiket tudatosabban hozzák meg, mint a férfiak, s az idősebb válaszadók fontosabbnak tartják, hogy folyamatosan tájékozódjanak élelmiszer-biztonsági kérdésekben. Az életkor előrehaladtával egyre inkább ragaszkodnak a számukra bevált üzletekhez, egyre kevésbé kötődnek azonban egyes márkákhoz, illetve gyártókhoz.

5. Recognition of the food chain supervisory authority

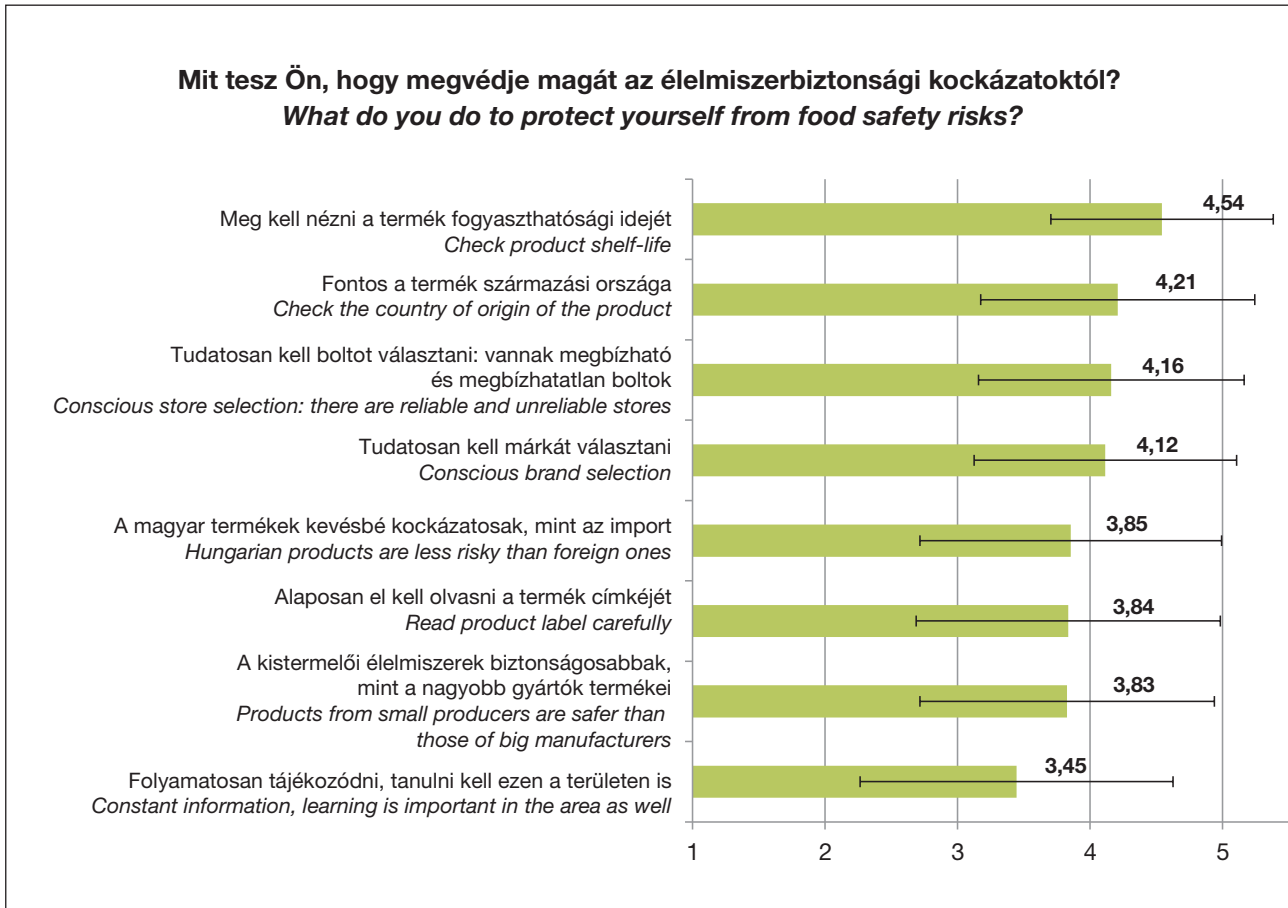
Food businesses are supervised by several authorities at the same time. Of the professional fields, the National Food Chain Safety Office (NÉBIH) is responsible for the state supervision of food chain safety. Although this office celebrated the 125th anniversary of its foundation last year, it only bears the name NÉBIH since March 15, 2012. Recognition of the organization has a fundamental importance in establishing credibility therefore, it is tested regularly. Results in **Figure 4** show that recognition of the new name has been increasing continuously. We would like to underscore two of the several interesting aspects of the results. The first one is that the Hungarian acronym name KÖJÁL (Station of Public Health and Epidemiology), which ceased to exist more than two decades ago, still shows a result of 14.04%. The other interesting phenomenon is that, in parallel with the increasing recognition of NÉBIH, the recognition of the independently no-longer existing Hungarian Food Safety Office (MÉBIH) has been increasing as well, which is most likely due to the similarity of the names of the two organizations. As expected, the correct name was selected by younger re-

spondents with higher levels of education, and it was also a sign of progress that families with small children are significantly more knowledgeable than the average.

Knowledge challenge type questions are also used for multivariate analysis, in order to be able to characterize different consumer segments more accurately. Most interesting results of this question group are shown in **Figure 5**. Although there have been a certain improvement in this aspect over the years, it can still be stated that a significant portion of consumers is still not well-informed enough on food safety issues. More qualified, younger and higher-income respondents performed better than average.

6. Conclusions

Today, the increasing value of the cooperation with consumers can be observed in the food chain supervisory authority of all developed countries. It was recognized in time by Hungary that steps needed to be taken in this question, the results of which can now be measured in the improved food safety consciousness of the population and the positive perception of the work of the authority and, through this, of the safety of Hungarian foods.



3. ábra: Fogyasztói vélemények az élelmiszer-biztonsági kockázatokról
Figure 3: Consumer opinions about food safety risks

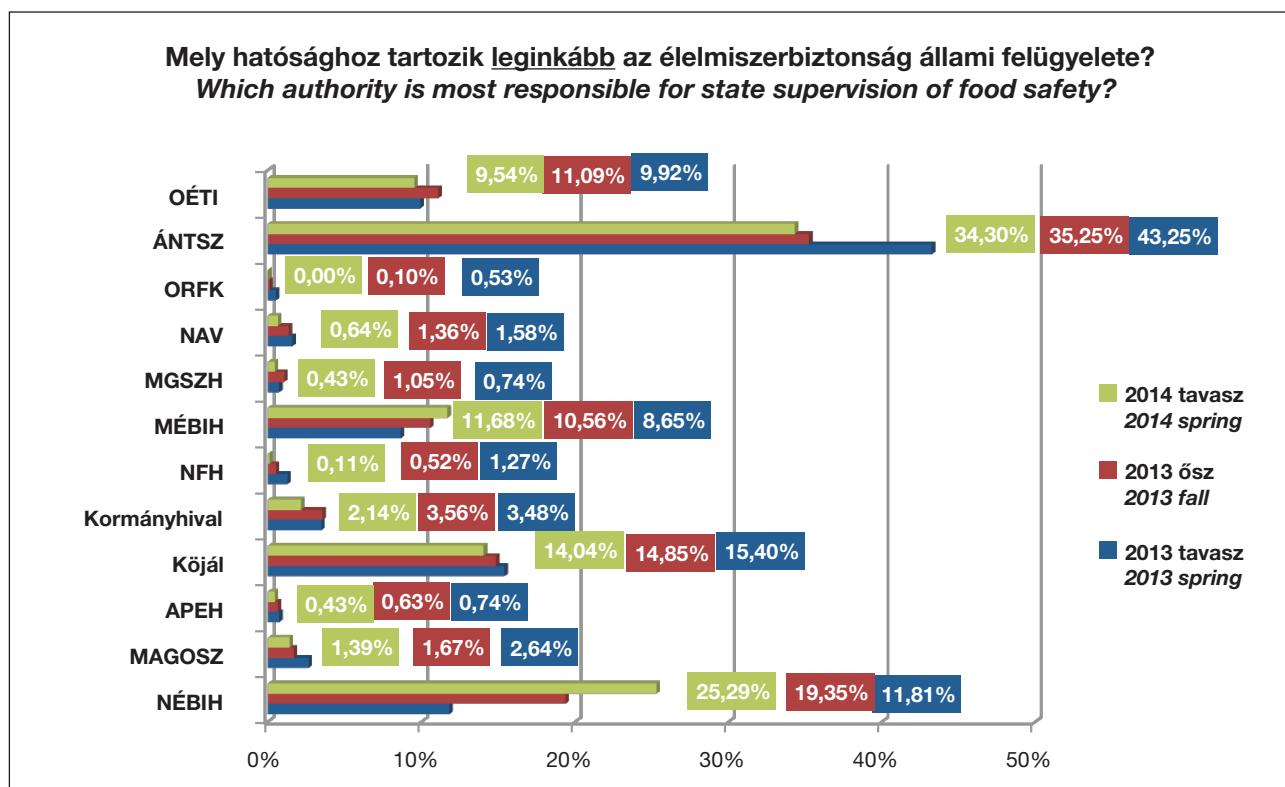
5. Az élelmiszerlánc-felügyelet ismertsége

Az élelmiszervállalkozások ellenőrzésével egyidejűleg több hatóság is foglalkozik. A szakterületek közül az élelmiszerlánc-biztonsággal kapcsolatos állami felügyelet tartozik a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatalhoz (NÉBIH). Bár e szolgálat tavaly ünnepelte

alapításának 125. évfordulóját, a NÉBIH nevet azonban csak 2012. március 15-e óta viseli. A szervezet ismertsége alapvető jelentőségű a hitelesség megteremtésében, ezért ezt is rendszeresen vizsgáljuk. A **4. ábrán** látható eredmények azt mutatják, hogy az új név ismertsége ütemesen fejlődik. Az eredmények között felfedezhető számos érdekesség közül kettőt

emelnék ki. A már több, mint két évtizede nem létező „KÖJÁL” név még mindig 14,04%-os eredményt mutat fel. Szintén érdekes jelenség, hogy a NÉBIH ismertségének fejlődésével párhuzamosan az önállóan ma már nem létező Magyar Élelmiszer-biztonsági Hivatal (MÉBIH) ismertsége is emelkedik, amely a két szervezet elnevezésének hasonlóságából adódhat.

A fiatalabb és magasabb iskolai végzettséggel rendelkező válaszadók közül – várakozásunknak megfelelően – többen jelölték meg a helyes megnevezést, s előremutató eredménynek számít, hogy a kisgyerekes családok is szignifikánsan tájékozottabbak az átlagnál.

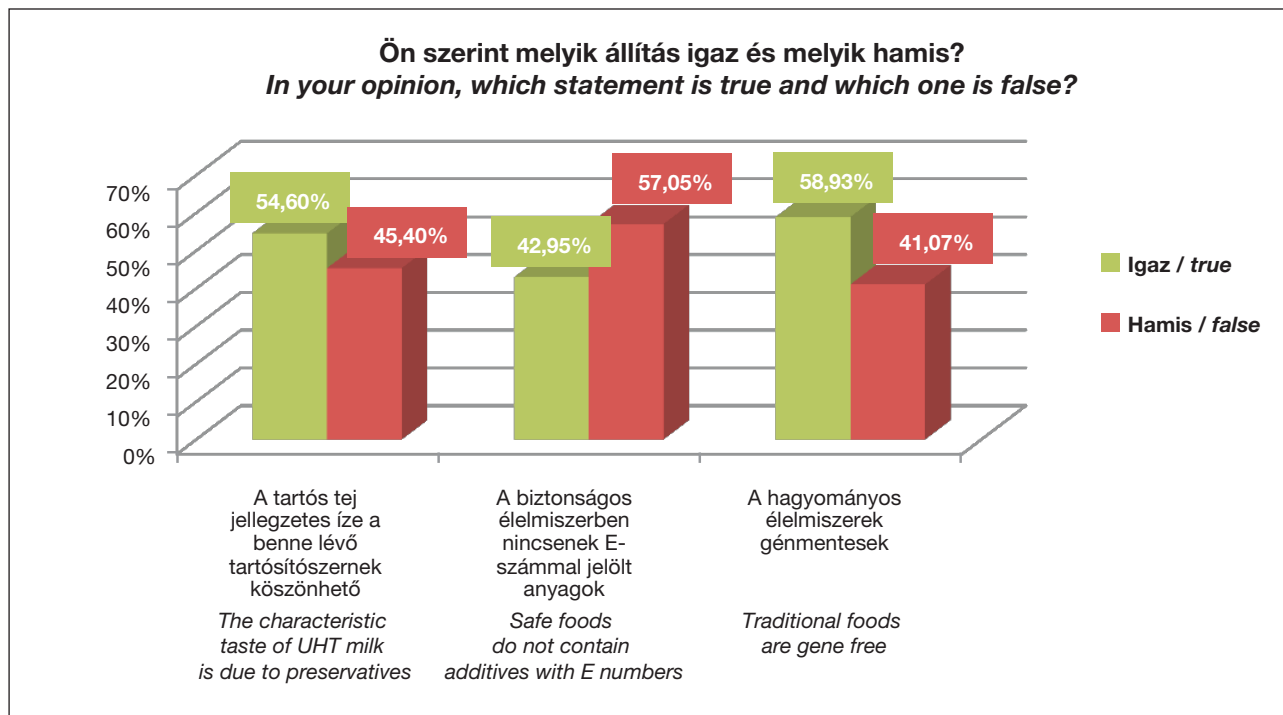


4. ábra: Az élelmiszerlánc-biztonság állami felügyeletéért felelős szervezet a fogyasztói megítélés alapján
 Figure 4: State authority responsible for food chain safety supervision according to consumer recognition

A többváltozós elemzésekhez tudáspróba jellegű kérdéseket is alkalmazunk, hogy még pontosabban tudjuk jellemezni az egyes fogyasztói szegmenseket. E kérdéscsoportból a legérdekesebb eredményeket mutatjuk be az **5. ábrán**. Bár az évek során bizonyos mértékű javulást tapasztaltunk e tekintetben, kije-

lenhető, hogy a fogyasztók jelentős hányada még mindig nem kellően tájékozott élelmiszer-biztonsági kérdésekben. Az átlagnál jobb eredményeket értek el a kvalifikáltabb, fiatalabb, valamint magasabb jövedelemmel rendelkező válaszadók.





5. ábra: Tudáspróba jellegű kérdések
Figure 5: Knowledge challenge type questions

6. Következtetések

A fogyasztókkal való együttműködés felértékelődése ma minden fejlett ország élelmiszerlánc-felügyeletében megfigyelhető. Magyarország időben ismerte

fel, hogy lépnie kell ebben a kérdésben, aminek eredményét lemérhetjük a lakosság élelmiszerbiztonsági tudatosságának javulásában, a hatóság munkájának és ezeken keresztül a magyar élelmiszerek biztonságának pozitív megítélésében.



n é b i h

Termőföldtől az asztalig



A kép illusztráció / The picture is illustration

Nagy Éva^{1,2}, Prokisch József², Daróczy Lajos³, Harangi János¹

Érkezett/Received: 2014. március/March – Elfogadva/Accepted: 2014. augusztus/August

A borsmenta hatóanyagai mézben

1. Összefoglalás

Célkitűzésünk az volt, hogy a méhészek által készített borsmentakivonatot tartalmazó mézkészítményekről bebizonyítsuk, hogy azokban megtalálhatók a gyógynövény hatóanyagai. Ennek megvalósításához olyan módszert dolgoztunk ki, amelyben a borsmenta (*Mentha x piperita*) levelek felhasználásával készült szirup és a méz illó komponenseit, azok összetételét elemeztük SPME mintavételezéssel és GC, valamint GC-MS módszerrel. A kromatográfiai elemzésekkel és az azt követő kiértékelések során sikerült bebizonyítanunk, hogy a gyógynövények illó komponenseinek nagy része a szirup révén bekerült a mézbe. Mivel az adott gyógynövényre jellemző komponensek az abból elkészített mézkészítményben is kimutathatóak, jogosan feltételezhetjük, hogy más nem illó, viszont gyógyhatásért felelős anyagok is bekerültek a mézekbe.

2. Bevezetés

A modern technikák gyors fejlődése miatt egy időre háttérbe szorult a természetes gyógyszerhatóanyagok alkalmazása. Napjainkban viszont ismét megnőtt a kereslet irántuk, egyre többen próbálják meg segítségükkel visszanyerni, illetve fenntartani egészségüket. A modern, nemrég felfedezett „csodaszerek” továbbra sem tudják visszaszorítani az olyan, már jól bevált, a hagyományos orvoslásban évezredek óta alkalmazott gyógyhatású készítményeket, mint a méz és a különböző gyógynövények.

Nagyon sok mézelő gyógynövényt ismerünk, azonban sok olyan egészségre jótékony hatással bíró gyógynövény is van, amelyekből nem lehet mézet készíteni, viszont a hatásuk miatt előszeretettel fogyasztjuk azokat. A gyógynövényekről és azok alkalmazásáról számos kézikönyv fellelhető, amelyek tudományos részletességgel ismertetik az egyes növények alkalmazási módját és annak hatását [1],[2],[3].

Egy berettyóújfalui méhészetben felmerült az az ötlet, hogy gyógynövénykivonatokat etetnek be a méhcsaládok egészségének feljavítására. Ezzel a várt mellett még más hatást is elértek, hiszen egyrészt a méhek egészségesebbek és erősebbek lettek, másrészt pedig a bevetett gyógynövényre jellemző ízű és színű terméket kaptak, ami alapján jogosan feltételezheték, hogy a késztermék tartalmazza a gyógynövény

komponenseit is. Ezzel a módszerrel természetes úton tudták kombinálni a méz és a gyógynövény jótékony hatását [4],[5],[6].

Az egyik ilyen bevetésre kerülő gyógynövény a borsmenta volt, amely a legnépszerűbb és legsokoldalúbban alkalmazott gyógy-és élelmiszernövények közé tartozik. Mind az élelmiszeriparban, mind a gyógyászatban a levelét használják fel, amelynek az illóolajtartalma 1-3 %, legfőbb hatóanyagai a mentol (és annak származékai), különböző flavonoidok, és rozmaringsav-származékok. Hatásmechanizmusát preklinikai és humánklinikai vizsgálatok során egyaránt felderítették. Nagyszerűen alkalmazható epe- és bélpanaszok enyhítésére, mivel relaxálja a bélrendszert simaizmait. Ezen túl megfázásos tüneteket kezelnek vele. Bőrgyógyászatban helyi érzéstelenítőként is használják, mivel jó hűsítő, érzéstelenítő [3].

A bevetéshez megfelelő receptek alapján elkészített borsmenta levél kivonattal dúsított cukorszirupot alkalmaztak a méhészek [5]. Fontos leszögezni, hogy az így előállított termék mézként nem forgalmazható, hanem „TÖBBMINTMÉZ” fantázianévvel találkozhatunk ezzel a mézédessé gyógyhatású készítménnyel.

Vizsgálataink célja az volt, hogy bebizonyítsuk: a gyógynövények illó komponensei valóban kimutathatóak a kész mézben, így közvetve az is bizonyítható, hogy a gyógynövény hatóanyagért felelős kompo-

¹ FOODLAB Kft.

² Debreceni Egyetem, Mezőgazdasági-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar, Állattudományi, Biotechnológiai és Természetvédelmi Intézet

³ Y-FOOD Élelmiszeripari, Kereskedelmi és Szolgáltató Kft.

¹ FOODLAB Ltd.

² University of Debrecen, Faculty of Agriculture, Food Science and Environmental Management, Institut of Veterinary Sciences, Biotechnology and Natural Protection, Department of Livestock

³ Y-Food, Food Industrial, Trade and Service Ltd.

nensei is behordásra kerültek. A vizsgálatok két feladatot céloztak: egyrészt az illó komponensek azonosítását, amelyet gázkromatográf-tömegspektrometriás mérésel végeztünk, másrészt a kromatográfiás ujjlenyomat készítését, amelyhez gázkromatográfiás elemzést alkalmaztunk [7]. A mézmintában és annak gőzterében jelen lévő illékony és fél-illékony szerves vegyületek jelentősen hozzájárulnak a méz ízéhez, meghatározzák, hogy mely növényről származnak, és milyen kezelési módnak vetették alá azokat. Az aromaanyagok segítségével meghatározhatjuk, hogy a gyógynövény, a belőle készült szirup és az abból készült méz milyen hasonlóságot mutatnak.

Az illó komponensek meghatározása történhet gőztér (head space, HS) elemzéssel, vagy szilárd-fázisú mikroextrakció (solid phase micro extraction, SPME) módszerrel. Ez utóbbi eljárás alkalmas arra is, hogy az illó komponensek összetétele alapján a méz eredete is megadható legyen [8]. A nem illékony komponenseket szilárd fázisú extrakciót követően folyadékkromatográfiás módszerrel lehet elemezni [9]. Jelen vizsgálatok csak az illó komponensek elemzését célozták.

3. Anyag és módszer

3.1. Mintaelőkészítés

Az SPME mintaelőkészítés kézi eszközzel történt.

- Az alkalmazott SPME szál: 85 µm poliakrilát szál.
- Extrakciós idő: 1 óra
- Extrakciós hőmérséklet: 50°C
- Deszorpciós hőmérséklet: 200°C (a gázkromatográf injektorában)
- Deszorpciós idő: 30 másodperc

Az SPME mintavételezéshez a méz és szirup mintákat jól zárható, szeptummal ellátott edényekbe mértük be, amelyekből a szeptumon keresztül végeztük az extrakciót.

A gázkromatográfiás elemzések Hewlett-Packard gyártmányú 5890 Series II típusú készüléken történtek. A gázkromatográf split-splitless injektorral és lángionizációs detektorral volt felszerelve. Az elemzési körülmények a következők voltak:

- Kolonna: HP-5 állófázisú kapilláris oszlop, 25 m x 0,25 mm x 0,25µm
- Vivőgáz: nitrogén (1 mL/perc, 40°C), állandó nyomás
- Elemzési hőmérséklet: 40°C 2 percig, ezt követően 5°C/perc felfűtés 200°C-ig
- Teljes elemzési idő: 44 perc
- Injektor hőmérséklet: 200°C
- Injektor liner: töltet nélküli szilanzált liner
- FID hőmérséklet: 300°C

A gázkromatográf vezérlését, az adatgyűjtést és az eredmények kiértékelését Agilent Chemstation rev.10 programmal végeztük.

A GC-MS elemzések Hewlett-Packard gyártmányú 5890 Series II típusú gázkromatográf – 5971A típusú

tömegspektrométeren történtek. A gázkromatográf split-splitless injektorral és lángionizációs detektorral volt felszerelve. A gázkromatográfiás elemzési körülmények az előbbiekkal azonosak, kivéve:

- Vivőgáz: hélium (1 mL/perc, 40°C), állandó injektor nyomás

A tömegspektrométer paraméterei:

- Transzfer line hőmérséklet: 280°C
- Ionizáció: 70eV
- Tömegtartomány: 10-500 AMU

A gázkromatográf-tömegspektrométer vezérlését, az adatgyűjtést és az eredmények kiértékelését Hewlett-Packard GC-MS Chemstation rev.3 programmal végeztük. A komponensek azonosítását a tömegspektrumok felhasználásával NIST és Wiley adatbázisok segítségével végeztük. Az azonosításhoz a retenciós indexeket is felhasználtuk, az indexeket kézikönyvekben megtalálható adatok alapján azonosítottuk [10], [11].

4. Eredmények

A GC-MS elemzések során az egyes minták komponenseinek azonosítását végeztük, meghatároztuk azokat a komponenseket, amelyek a borsmentára jellemzők. A TIC (total ion chromatogram) eredmények felhasználásával az azonosított normál láncú zsírsavak etilésztereinek ismert retenciós indexei alapján minden komponens retenciós indexét kiszámoltuk. Az index adatok segítségével a kézikönyvekben lévő adatokkal összevetve az azonosításokat meg lehetett erősíteni, illetve bizonytalan esetekben az azonosítás megtörténhetett (**1. táblázat**).

1. táblázat: A borsmenta szirup és méz néhány specifikus komponense
Table 1: Some specific components of peppermint honey and syrup

Komponens Component	CAS	Index
1,8-Cineole	470-82-6	1030
Phenylethyl alcohol	60-12-8	1111
Neomenthol	491-01-0	1178
L-Menthol	89-78-1	1188
α-Neo-iso-menthol	491-02-1	1198
Isomenthol	490-99-3	1202
α-Terpineol	10482-56-1	1206
Piperiton	89-91-6	1268
Thymol	89-83-8	1306
Eugenol	97-53-0	1369
β-Damascenone	23726-93-4	1397
Viridiflorol	552-02-3	1603

A kapott tömegspektrumok segítségével az általánosan ismert mentol származékok mellett néhány olyan komponenst is kimutattunk, amelyekkel ritkán találkozunk gyógynövényekben. Ilyen vegyület például a viridiflorol, amelynek tömegspektruma az **1. ábrán** látható.

The active ingredients of peppermint in honey

Éva Nagy^{1,2}, József Prokisch², Lajos Daróczi³, János Harangi¹

Keywords: peppermint, honey, herbs, honey keeper, SPME extraction, volatile components;

1. Summary

Apiarists let prepare by bees honey products containing medicinal drugs. Our aim was to prove that the active ingredients originated from the herbs are also present in the honey products. To fulfill that task we developed a method analyzing the volatile components of the syrup and honey prepared using the leaves of peppermint (*Mentha x piperita*). That method involves a sample preparation by SPME followed by GC and GC-MS analysis. The analyses and the data evaluations proved that the volatile components of the herb containing syrups were transferred to honeys by bees. As the characteristic components of certain herbs could be identified also in the honey product it is obvious that the components responsible for the medicinal effects (if they are not identical with the volatile components) are also transferred to honey.

2. Introduction

The use of the natural medicine ingredients was suppressed for a while because the development of the modern techniques. However, nowadays the demand increases; more and more people try to recover and keep their health with the help of those natural medicines. The novel recently discovered panaceas still cannot overshadow those medicinal drugs which are used for thousands of years by the traditional medicine like different honeys and herbals.

There are lots of medicinal plants as nectar source but there are several other useful herbals which cannot serve as nectar source. There are lots of handbooks known about medicinal plants and their use which contains detailed scientific description of the different plants and their effect [1], [2], [3].

Apiarists at Berettyóújfalu have got an idea to feed the bees with extracts of medicinal plants to improve their health. They reached more benefit as they planned because the bees became healthier and stronger and they produced a honey with similar taste and colour to the herbal was feed. Therefore it is obvious that the components responsible for the medicinal effects are also transferred to honey. With this procedure they could combine the beneficial effects of honey and herbs on natural way [4],[5],[6].

One of the used herbals was peppermint which is a very famous and versatile medicinal and food plant. The leaves are used in food industry and medicine as well. The leaves contains 1-3 % essential oils, the main components are menthol (and its derivatives), different flavonoids, and rosemary acid derivatives. The mechanism of its effect is confirmed by preclinical and human clinical studies, as well. Since it relaxes the smooth muscle of intestinal tract it is very suitable to relieve bile and intestinal problems. Besides, it is useful for catarrhal symptoms. In dermatology it is used as local analgesic because it has anaesthetic and refrigerant effect [3].

To feeding the bees the beekeepers prepared syrup enriched with the extract of peppermint according to appropriate recipes [5]. Therefore it is important that the trade of this product as honey is not allowed but those honey products are labelled as "MORETHANHONEY" (in Hungarian: „TÖBBMINTMÉZ”).

The aim of our studies was to prove that the volatile components originated from the herbs are also present

in the honey products thus it is indirectly demonstrable that the active ingredients are also present. There were two tasks in our research: on one hand to identify the volatile components with gas chromatography-mass spectrometry and on the other hand to create a chromatographic fingerprint with gas chromatography [7]. The volatile and semivolatile organic compounds present in honey and in its headspace are responsible for the taste of the honey they show the origin and the kind of the treatment. By means of the analysis of volatile component compositions we can determine the similarity of the herbs, the syrup was made from herbs, and the final produced honey.

The analysis of the volatile components is possible by headspace or by solid phase microextraction (SPME) methods. The last one is also suitable to define the botanical origin of the honey based on the volatile components composition [8]. The analysis of the non volatile components can be made by solid phase extraction followed by liquid chromatographic analysis [9]. The aim of the present study was the analysis only of the volatile components.

3. Materials and methods

3.1. Sample preparation:

The SPME sample preparation was made with manual tool. The honey and syrupy samples were placed into lockup sample vials equipped with septa. The extraction was made through the septum.

- SPME fibre: 85 µm poliacrylate
- Extraction time: 1 hour
- Extraction temperature: 50°C
- Desorption time: 30 sec
- Desorption temperature: 200°C (in the GC injection port)

The GC analyses were performed on a Hewlett-Packard made 5890 Series II instrument equipped with split-splitless injector and FID.

- Column: HP-5 capillary column x 0,25 mm x 0,25µm
- Carrier gas: nitrogen (1 mL/min, constant pressure)
- Temperature program: 40°C 2 min followed by 5°C/min up to 200°C
- Analysis time: 44 min
- Injector temperature: 200°C
- Injector liner: liner without packing
- FID temperature: 300°C

Agilent Chemstation rev.10 was used for system control, data acquisition, and data evaluation.

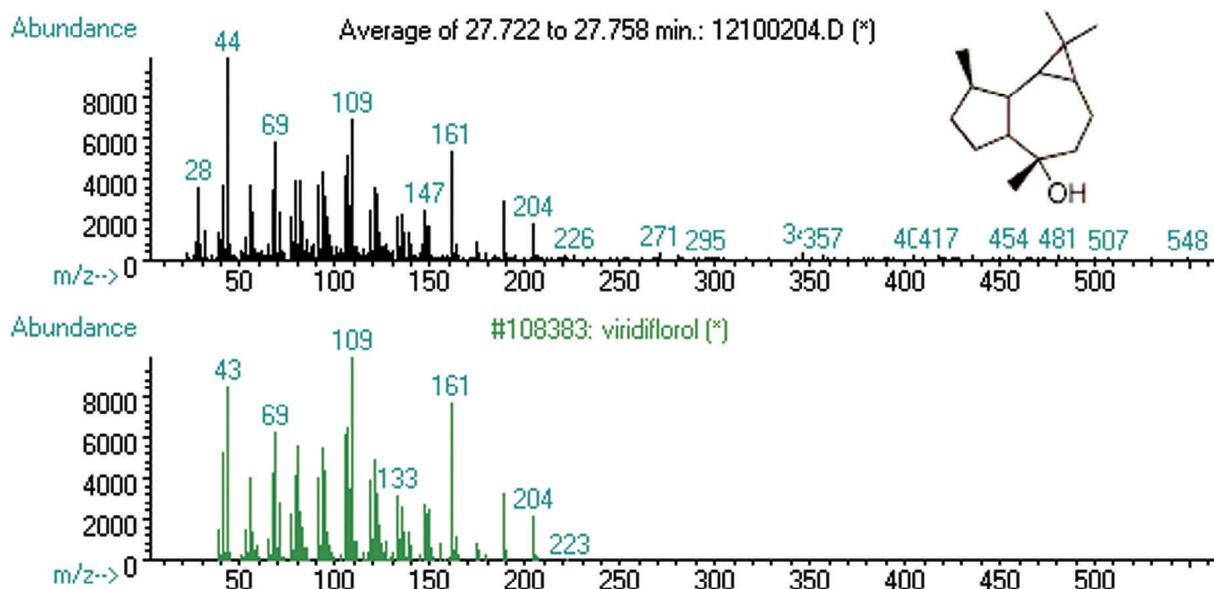
The GC-MS measurements were made on a 5890 Series II – 5971 mass spectrometer system. The gas chromatograph has split-splitless injector and FID detector. The GC parameters were the same as above but:

- Carrier gas: helium (1 mL/min, constant pressure)

Mass spectrometric parameters:

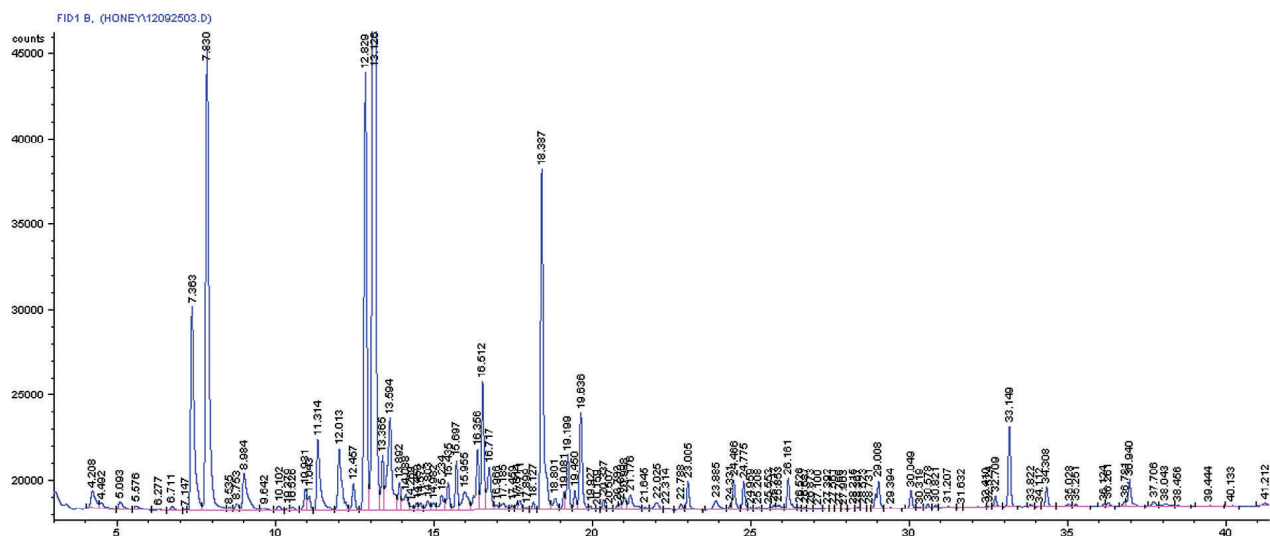
- Transfer line temperature: 280°C
- Ionization: 70eV (for library searchable spectra)
- Mass range: 10-500 AMU

Hewlett-Packard GC-MS Chemstation rev.3 was used for system control, data acquisition, and data evaluation. The components were identified using Wiley and NIST databases and using retention indices from different manuals [10], [11].



1. ábra: A viridiflorol azonosítása a tömegspektruma alapján
 Figure 1: The determination of the viridiflorol with its mass spectra

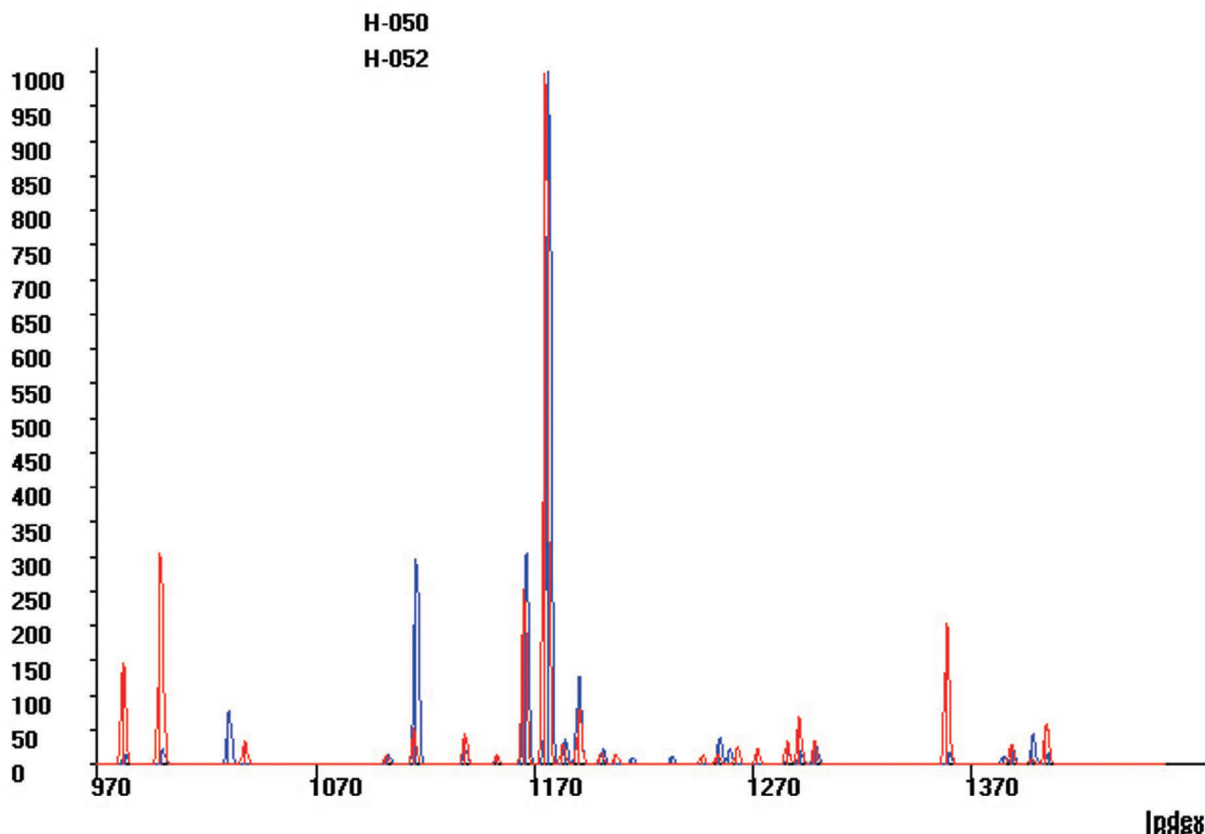
A 2. ábrán látható gázkromatogramok kiértékelését, az indexek meghatározását a PICI programmal végeztük [7], retenciós index referenciaként a mintákban jelen lévő telített láncú zsírsav etilésztereket használtuk.



2. ábra: A borsmenta méz illó komponenseinek kromatogramja (SPME-GC-FID)
 Figure 2: The chromatogram of volatile components in peppermint honey (SPME-GC-FID)

A PICI program a gázkromatográfiai elemzések eredményét felhasználva állítja elő a kromatográfiai ujjlenyomatot, amelyet adatbázisban tárolunk. Ezeket összehasonlítva határozza meg a szoftver a kromatogramok hasonlóságát. A borsmenta esetében a

méz és a szirup illó komponensei azonosak, a komponensek mennyiségi arányaiban található eltérések a méhek által végzett méz érlelési folyamattal értelmezhetők (3. ábra).



3. ábra: *Borsmenta* tartalmú szirup és méz illó komponenseinek összehasonlítása
Figure 3: The comparison of the volatile components in peppermint syrup and honey

5. Következtetések

A bemutatott mérési eredmények alátámasztják azt a feltételezést, hogy a méhek a gyógynövény tartalmú sziruppal történő etetéskor a gyógynövények komponenseit behordják, a keletkező méz (amely természetesen tartalmazza a behordott nektár eredetű mézet is) kimutathatóan tartalmazza a gyógynövények illó komponenseit. Ez közvetve bizonyítja, hogy a gyógynövény valamennyi komponense belekerül a mézbe, vagyis a gyógyhatásért felelős komponensek (akár illók, akár nem) a méz alkotóivá válnak. Az így előállított méztermék jól fogyasztható gyógyhatású készítmény, amely az eredeti gyógynövényből nyerhető készítményhez (tea, extrakció stb.) hasonlóan tartalmazza a gyógyhatásért felelős komponenseket.

6. Irodalom

- [1] Ody P. The complete medicinal herbal (1993): A practical guide to the healing properties of herbs, with more than 250 remedies for common ailments. DK ADULT
- [2] Schönfelder I, Schönfelder P. (2005): *Gyógynövényhatározó*. Kaposvár: Holló és társa Kft.
- [3] Csupor D, Szendrei K. (2012): *Gyógynövénytár - útmutató a korszerű gyógynövény alkalmazáshoz*. 2. kiadás ed. Budapest: Medicina Könyvkiadó Zrt.
- [4] Molan P. (1999): Why honey is effective as a medicine. I. its use in modern medicine. *Bee World* 80 (2) p. 80-92.

- [5] Ságián J (2012): Méhek etetése gyógynövény tartalmú takarmánnyal. (személyes közlés)
- [6] Szalay L, Halmágyi L. (1998): *Gyógyító mézek és mézelő gyógynövények*. Budapest: Magyar Méhészek Egyesülete
- [7] Harangi J. (2008): Chromatographic Index - Intensity Fingerprint: Identification of Multicomponent Samples. *Chromatographia*. 68 (0) p. 77-83
- [8] Cuevas-Glory LF, Pino JA, Santiago, LS, Sauri-Duch E. (2007): A review of Volatile Analytical Methods for Determining the Botanical Origin of Honey. *Food Chem*. 03 (3) p. 1032-43
- [9] Dimitrova B, Gevrenova R, Anklam E. (2007): Analysis of Phenolic Acids in Honeys of Different Floral Origin By Solid-phase Extraction and High-performance Liquid Chromatography. *Phytochem Anal*. 18 (1) p. 24-32
- [10] Cserhádi T. (2010): *Chromatography of Aroma Compounds and Fragrances*. 1st Edition Ed. Berlin Heidelberg: Springer Verlag
- [11] Tarján G, Takács JM. (2012): *Essential Oils, Manual for Gas-liquid Chromatography Analysis*. Budapest

„A kutatás az Európai Unió és Magyarország támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 azonosító számú „Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése konvergencia program” című kiemelt projekt keretei között valósult meg”.

4. Results

During the GC-MS analysis we identified the components of the different samples and determined the specific compounds of the peppermint. We calculated the retention indices of the components using the known retention indices of identified straight-chain saturated fatty acid ethyl esters from the TIC (total ion chromatogram). The identification was confirmed by the comparison of the data from the handbooks of indices data (**Table 1**).

With the help of the measured mass spectra we identified some components besides the well-known menthol derivatives which occur rarely in medicinal plants (e.g. viridiflorol, **Figure 1**).

For the evaluation of the GC chromatograms (**Figure 2**) and the determination of the indices were used the PIC1 software [7]; we used the saturated fatty acids of the samples as retention index references.

The PIC1 software uses the results of the gas chromatographic analysis to create the chromatographic fingerprints which are stored in a database. The software compares them and determines the similarity of the chromatograms. In the case of peppermint, the volatile components are the same in honey and syrup samples; there are only quantity differences because of the ageing process made by bees (**Figure 3**).

5. Conclusions

The presented results of the measurements confirm the assumption, that the components of the herb containing syrups were transferred to the honeys by the bees. The volatile components of the herbs are present in the prepared honey (which contains the honey made from the natural nectar sources, as well). It proves indirectly that all of the components of plants are transferred to the honey, therefore the active ingredients (volatile or non volatile) become components of honey. The honey products made in this way are useful medicines and contain the compounds which are responsible for the medicinal effect like other products (e.g. tee) made from the original herbs.

LC-MS/MS módszerek alkalmazása az élelmiszeranalitikában (részlet)

dr. Tölgyesi Ádám, NÉBIH

Az élelmiszer minták összetételüket tekintve a legkomplexebb mátrixok közé tartoznak így a mai modern élelmiszeranalitikai meghatározások megkövetelik a legpontosabb, legszelektívebb és legérzékenyebb technikák alkalmazását. A mátrixoktól a reziduumok elválasztása sok esetben kapcsolt technikák (LC-MS/MS QQQ) alkalmazását igényli, amelyek lehetővé teszik a célmolekulák ultranyomnyi kimutatását még a legösszetettebb mintákban is. Ilyen célokra 2007 novemberétől van lehetőségem használni az Agilent legelső hármaskvadropol rendszerű LC-MS/MS készülékét, a 6410A jelzésű modellt. A laboratórium 2010. áprilisi NAT auditálása során 16 ilyen módszer került akkreditálásra a készüléken, és ez a módszerszám még négygyel bővült.

Amfenikolok meghatározása állati eredetű élelmiszerekből

Az amfenikolok csoportjába tartoznak engedélyezett szerek, mint tiamfenikol (TAP) és flórfenikol (FAP), mégis a legismertebb amfenikol a klóramfenikol (CAP), ami tiltott (MRPL 0,3 µg/kg). Laboratóriumainkban a CAP szűrő mérése (screening) enzimjelzésű kompetitív immunanalitikai módszerrel folyik (ELISA). A screening méréssel pozitívként értékelt

minták megerősítő (konfirmációs) mérésére LC-MS/MS módszert fejlesztettünk, mellyel 2010-ben nemzetközi körvizsgálatban (szervező: ANSES EU-RL, Fougères, Franciaország) vettünk részt. Pisztráng mintákból kellett a CAP-ot kimutatni ismét µg/kg-os szint alatt. Az általunk mért értékek 0,15 és 0,21 µg/kg-nak adódtak, melyekre számolt Z értékek -0,28 és -0,37 voltak. A pisztráng minták tényleges CAP koncentrációi 0,15 és 0,23 µg/kg voltak.

Összefoglalás

A bemutatásra került módszerek szemléletesen mutatják, hogy az LC-MS/MS technika milyen széles körben alkalmazható különböző hatóanyagok (szteroidok, antibiotikumok, mikotoxinok) meghatározására akár a legösszetettebb mátrixokból (testi fluidumok, szövetek, tej, stb.) is. A pontos analízis kulcsa egy jó előkészítés és egy jó műszer. Az Agilent készülék több tízezer kromatogram felvétele után is megbízhatóan használható a szermaradékok nyomni kimutatására.



krōmat

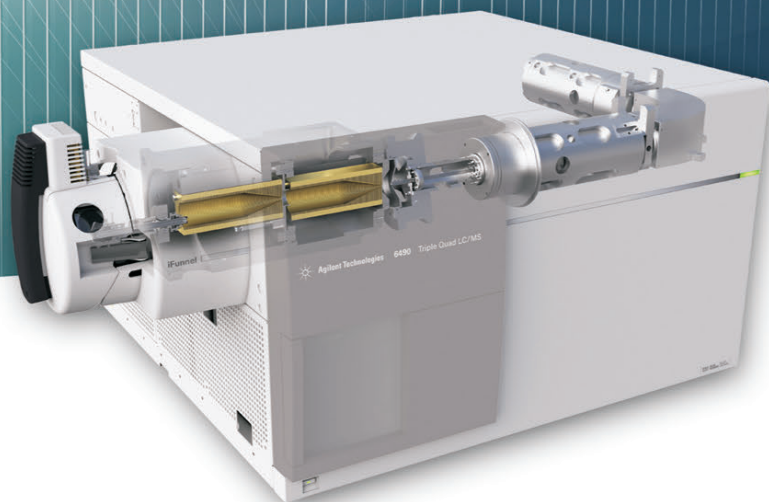


Agilent Technologies

Agilent 6000 LC/MS rendszerek: Agilent 6490 QQQ LC/MS rendszer

Az új "iFunnel Technology" ideális választás a kritikus gyógyszeripari, élelmiszerbiztonsági, környezeti, élettudományi, klinikai, kriminalisztikai és toxikológiai alkalmazások területén.

- "iFunnel Technology" az attogram (zeptomol) érzékenyséért,
- Agilent Jet Stream termikus gradiens fókuszálású ionforrással,
- Nagyhatékonyságú hexabore mintavételi kapilláris,
- Kétlépcsős ion tükör a nagyobb tömegfelbontás érdekében,
- Automatizált multi-komponens tuning mód.



kr^omat

Termékeinkről bővebb tájékoztatást az alábbi elérhetőségeken:

Kromat Kft. • 1112 Budapest, Péterhegyi út 98. • Telefon: 248-2110
Fax: 319-8574 • E-mail: info@kromat.hu • www.kromat.hu



Kurucz Csilla¹ - Csík Gabriella¹

Nemzeti szabványosítási hírek

2014. év június-szeptember hónapban bevezetett szabványok:

A felsorolásban szereplő szabványok megvásárolhatóak vagy megrendelhetők az MSZT Szabványboltban (1082 Budapest VIII., Horváth Mihály tér 1., telefon: 456-6892, telefax: 456-6884, levélcím: Budapest 9., Pf. 24, 1450), illetve elektronikus formában beszerezhetők a www.mszt.hu/webaruhas 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.

ICS 03.120.20 Terméktanúsítás és vállalatnúsítás. Megfelelőségértékelés

MSZ ISO/TS 22003:2014 Élelmiszer-biztonsági irányítási rendszerek. Az élelmiszer-biztonsági irányítási rendszerek auditját és tanúsítását végző testületekre vonatkozó követelmények (magyar nyelven megjelent), amely visszavonta az MSZ ISO/TS 22003:2009-et

ICS 07.100.20 Víz mikrobiológiája

MSZ EN ISO 9308-2:2014 Vízminőség. Az *Escherichia coli* és coliform baktériumok megszámlálása. 2. rész: A legvalószínűbb szám módszere (ISO 9308-2:2012), amely visszavonta az MSZ ISO 9308-2:1993-at

ICS 07.100.30 Élelmiszer-mikrobiológia

MSZ EN ISO 7218:2007/A1:2014 Élelmiszerek és takarmányok mikrobiológiája. A mikrobiológiai vizsgálatok általános követelményei és irányelvei. 1. módosítás (ISO 7218:2007/Amd 1:2013 2014-04-15-i helyesbített változat)

MSZ EN ISO 11133:2014 Élelmiszer, takarmány és víz mikrobiológiája. A táptalajok előkészítése, előállítása, tárolása és ellenőrzése (ISO 11133:2014)

MSZ CEN ISO/TR 6579-3:2014 Az élelmiszerlánc mikrobiológiája. Horizontális módszer a *Salmonella* kimutatására, számlálására és szerotipizálására. 3. rész: A *Salmonella* spp. szerotipizálásának irányelvei (ISO/TR 6579-3:2014)

ICS 13.060 Vízminőség

13.060.50 Víz vizsgálata vegyi anyagokra

MSZ EN ISO 12010:2014 Vízminőség. A rövid láncú poliklórozott alkánok (SCCPs) meghatározása vízben. Gázkromatográfiás-tömegspektrometriás (GC-MS) és negatív kémiai ionizációs (NCI) módszer (ISO 12010:2012)

13.060.70 Víz biológiai tulajdonságainak vizsgálata

MSZ EN 13946:2014 Vízminőség. Útmutató a folyók és tavak bentikus kovamoszatjainak rutinmintavételéhez és minta-előkészítéséhez, amely visszavonta az MSZ EN 13946:2003-at

MSZ EN 14184:2014 Vízminőség. Útmutató a folyóvizek vízi makrofitáinak felméréséhez, amely visszavonta az MSZ EN 14184:2004-et

MSZ EN 14407:2014 Vízminőség. Útmutató a folyókból és tavakból vett minták bentikus kovamoszatjainak azonosításához és számlálásához, amely visszavonta az MSZ EN 14407:2004-et

ICS 65.120 Takarmányok

MSZ EN 15781:2009 Takarmányok. A maduramicin-ammónium meghatározása fordított fázisú HPLC-vel, oszlop utáni származékképzéssel (magyar nyelven megjelent)

MSZ EN 15782:2009 Takarmányok. A nikarbazin meghatározása. Nagy hatékonyságú folyadékkromatográfiás módszer (magyar nyelven megjelent)

MSZ EN 15784:2010 Takarmányok. A feltételezett *Bacillus* spp. elkülönítése és megszámlálása (magyar nyelven megjelent)

MSZ EN 16158:2012 Takarmányok. A szemduramicintartalom meghatározása. Folyadékkromatográfiás módszer „faszerkezetű” analitikai megközelítéssel (magyar nyelven megjelent)

ICS 67 Élelmiszeripar

67.050 Élelmiszertermékek vizsgálatának és elemzésének általános módszerei

MSZ EN 12822:2014 Élelmiszerek. Az E-vitamin meghatározása nagy hatékonyságú folyadékkromatográfi-

¹ Magyar Szabványügyi Testület (MSZT)

Review of national standardization

Implemented national standards from June to September, 2014

The following Hungarian standards are commercially available at MSZT (Hungarian Standards Institution, H-1082 Budapest, Horváth Mihály tér 1., phone: +36 1 456 6892, fax: +36 1 456 6884, postal address: H-1450 Budapest 9., Pf. 24) or via website: www.mszt.hu/webaruhas.

ICS 03.120.20 Product and company certification. Conformity assessment

MSZ ISO/TS 22003:2014 Food safety management systems. Requirements for bodies providing audit and certification of food safety management systems (published in Hungarian) which has withdrawn the MSZ ISO/TS 22003:2009

ICS 07.100.20 Microbiology of water

MSZ EN ISO 9308-2:2014 Water quality. Enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria. Part 2: Most probable number method (ISO 9308-2:2012) which has withdrawn the MSZ ISO 9308-2:1993

ICS 07.100.30 Food microbiology

MSZ EN ISO 7218:2007/A1:2014 Microbiology of food and animal feeding stuffs. General requirements and guidance for microbiological examinations. Amendment 1 (ISO 7218:2007/Amd 1:2013, Corrected version 2014-04-15)

MSZ EN ISO 11133:2014 Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media (ISO 11133:2014)

MSZ CEN ISO/TR 6579-3:2014 Microbiology of the food chain. Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella*. Part 3: Guidelines for serotyping of *Salmonella* spp. (ISO/TR 6579-3:2014)

ICS 13.060 Water quality

13.060.50 *Examination of water for chemical substances*

MSZ EN ISO 12010:2014 Water quality. Determination of short-chain polychlorinated alkanes (SCCPs) in water. Method using gas chromatography-mass

spectrometry (GC-MS) and negative-ion chemical ionization (NCI) (ISO 12010:2012)

13.060.70 *Examination of biological properties of water*

MSZ EN 13946:2014 Water quality. Guidance for the routine sampling and preparation of benthic diatoms from rivers and lakes which has withdrawn the MSZ EN 13946:2003

MSZ EN 14184:2014 Water quality. Guidance for the surveying of aquatic macrophytes in running waters which has withdrawn the MSZ EN 14184:2004

MSZ EN 14407:2014 Water quality. Guidance for the identification and enumeration of benthic diatom samples from rivers and lakes which has withdrawn the MSZ EN 14407:2004

ICS 65.120 Animal feeding stuffs

MSZ EN 15781:2009 Animal feeding stuffs. Determination of maduramicin ammonium by reversed-phase HPLC using post-column derivatisation (published in Hungarian)

MSZ EN 15782:2009 Animal feeding stuffs. Determination of nicarbazin. High performance liquid chromatographic method (published in Hungarian)

MSZ EN 15784:2010 Animal feeding stuffs. Isolation and enumeration of presumptive *Bacillus* spp. (published in Hungarian)

MSZ EN 16158:2012 Animal feeding stuffs. Determination of semduramicin content. Liquid chromatographic method using a "tree" analytical approach (published in Hungarian)

ICS 67 Food technology

67.050 *General methods of tests and analysis for food products*

MSZ EN 12822:2014 Foodstuffs. Determination of vitamin E by high performance liquid chromatography. Measurement of α -, β -, γ - and δ -tocopherol which has withdrawn the MSZ EN 12822:2000

MSZ EN 12823-1:2014 Foodstuffs. Determination of vitamin A by high performance liquid chromatography. Part 1: Measurement of all-E-retinol and 13-Z-

¹ Hungarian Standards Institution

ával. Az alfa-, béta-, gamma- és delta-tokoferol mérése, amely visszavonta az MSZ EN 12822:2000-et

MSZ EN 12823-1:2014 Élelmiszerek. Az A-vitamin meghatározása nagy hatékonyságú folyadékkromatográfiával. 1. rész: Az all-E-retinol és 13-Z-retinol mérése, amely visszavonta az MSZ EN 12823-1:2000-et

MSZ EN 14122:2014 Élelmiszerek. A B₁-vitamin meghatározása nagy hatékonyságú folyadékkromatográfiával, amely visszavonta az MSZ EN 14122:2006-et

MSZ EN 14152:2014 Élelmiszerek. A B₂-vitamin meghatározása nagy hatékonyságú folyadékkromatográfiával, amely visszavonta az MSZ EN 14152:2004-et

MSZ EN 14164:2014 Élelmiszerek. A B₆-vitamin meghatározása nagy hatékonyságú folyadékkromatográfiával, amely visszavonta az MSZ EN 14164:2008-et

MSZ EN 15829:2010 Élelmiszerek. Az ochratoxin A meghatározása különféle mazsolában, aszalt gyümölcskeverékekben és aszalt fügében. HPLC-módszer immunaffinitás-oszlopon végzett tisztítással és fluoreszcenciás kimutatással (magyar nyelven megjelent)

MSZ EN ISO 16634-1:2009 Élelmiszerek. Az összes nitrogéntartalom meghatározása a Dumas-elv szerinti égetéssel és a nyersfehérje-tartalom kiszámítása. 1. rész: Olajmagvak és takarmányok (ISO 16634-1:2008) (magyar nyelven megjelent)

67.080.10 Gyümölcsök és a belőlük származó termékek

MSZ EN 15890:2011 Élelmiszerek. A patulin meghatározása csecsemők és kisgyermek számára készített gyümölcslevekben és gyümölcsalapú pürékben. HPLC-módszer folyadék/folyadék megosztásos tisztítással, szilárd fázisú extrakcióval és UV-kimutatással (magyar nyelven megjelent)

67.100.10 Tej és feldolgozott tejtermékek

MSZ EN ISO 16297:2014 Tej. Baktériumszámlálás. Az alternatív módszerek kiértékelésének protokollja (ISO 16297:2013)

67.140.20 Kávé és kávépótszerek

MSZ ISO 3509:2007 Kávé és kávétermékek. Szakszótár (magyar nyelven megjelent)

MSZ ISO 6668:2014 Zöld kávé. Az érzékszervi vizsgálatokban felhasznált minták előkészítése (magyar nyelven megjelent)

67.200.10 Állati és növényi zsírok és olajok

MSZ EN ISO 5555:2001/A1:2014 Állati és növényi zsírok és olajok. Mintavétel. 1. módosítás: Flexitartályok (ISO 5555:2001/A1:2014)

MSZ EN ISO 6883:2014 Állati és növényi zsírok és olajok. A hagyományos tömeg per térfogat meghatározása (litertömeg levegőben) (ISO 6883:2007)

MSZ EN ISO 12228-1:2014 Az egyedi és az összes szterintartalom meghatározása. Gázkromatográfiás módszer. 1. rész: Állati és növényi zsírok és olajok (ISO 12228-1:2014), amely visszavonta az MSZ EN ISO 12228:2000-et

MSZ EN ISO 12872:2014 Olívaolaj és olívaolaj-csa-olaj. A 2-gliceril-monopalmitát-tartalom meghatározása (ISO 12872:2010)

MSZ EN ISO 12873:2014 Olívaolaj és olívaolaj-csa-olaj. A viasztartalom meghatározása kapilláris-gázkromatográfiával (ISO 12873:2010)

MSZ EN ISO 29822:2014 Állati és növényi zsírok és olajok. Izomer diacil-gliceridek. Az 1,2- és a 1,3-diacil-gliceridek relatív mennyiségének meghatározása (ISO 29822:2009)

MSZ EN ISO 29841:2014 Növényi zsírok és olajok. A klorofil-a és -a' degradációs termékeinek meghatározása (feofitin-a és -a' és pirofeofitinek) (ISO 29841:2009)

67.220.10 Fűszerek és ízesítők

MSZ EN ISO 3493:2014 Vanília. Szakszótár (ISO 3493:2014), amely visszavonta az MSZ EN ISO 3493:2007-et

67.240 Érzékszervi vizsgálat

MSZ EN ISO 8589:2010/A1:2014 Érzékszervi vizsgálatok. Általános útmutató a bírálati helyiségek tervezéséhez. 1. módosítás (ISO 8589:2007/Amd 1:2014)

2014. év június-szeptember hónapban visszavont szabványok:

07.100.30

MSZ 3640-2:1987 Húsok és húsalapú élelmiszerek mikrobiológiai vizsgálata. Általános előírások

MSZ 3640-11:1983 A feltételezetten Clostridium perfringens baktériumok kimutatása és legvalószínűbb számának (nagyságrendjének) meghatározása folyékony tápközegben

MSZ 3640-12:1979 Húsok és húsalapú élelmiszerek mikrobiológiai vizsgálata. Escherichia coli kimutatása és számának meghatározása folyékony táptalajból

MSZ 3640-19:1979 Húsok és húsalapú élelmiszerek mikrobiológiai vizsgálata. Escherichia coli számának meghatározása szilárd táptalajban

MSZ 3640-21:1983 Húsok és húsalapú élelmiszerek mikrobiológiai vizsgálata. Enterobaktériumok számának meghatározása szilárd tápközegben telepszámlálással

retinol which has withdrawn the MSZ EN 12823-1:2000

MSZ EN 14122:2014 Foodstuffs. Determination of vitamin B₁ by high performance liquid chromatography which has withdrawn the MSZ EN 14122:2006

MSZ EN 14152:2014 Foodstuffs. Determination of vitamin B₂ by high performance liquid chromatography which has withdrawn the MSZ EN 14152:2004

MSZ EN 14164:2014 Foodstuffs. Determination of vitamin B₆ by high performance liquid chromatography which has withdrawn the MSZ EN 14164:2008

MSZ EN 15829:2010 Foodstuffs. Determination of ochratoxin A in currants, raisins, sultanas, mixed dried fruit and dried figs. HPLC method with immunoaffinity column cleanup and fluorescence detection (published in Hungarian)

MSZ EN ISO 16634-1:2009 Food products. Determination of the total nitrogen content by combustion according to the Dumas principle and calculation of the crude protein content. Part 1: Oilseeds and animal feeding stuffs (ISO 16634-1:2008) (published in Hungarian)

67.080.10 Fruits and derived products

MSZ EN 15890:2011 Foodstuffs. Determination of patulin in fruit juice and fruit based purée for infants and young children. HPLC method with liquid/liquid partition cleanup and solid phase extraction and UV detection (published in Hungarian)

67.100.10 Milk and processed milk products

MSZ EN ISO 16297:2014 Milk. Bacterial count. Protocol for the evaluation of alternative methods (ISO 16297:2013)

67.140.20 Coffee and coffee substitutes

MSZ ISO 3509:2007 Coffee and coffee products. Vocabulary (published in Hungarian)

MSZ ISO 6668:2014 Green coffee. Preparation of samples for use in sensory analysis (published in Hungarian)

67.200.10 Animal and vegetable fats and oils

MSZ EN ISO 5555:2001/A1:2014 Animal and vegetable fats and oils. Sampling. Amendment 1: Flexitanks (ISO 5555:2001/A1:2014)

MSZ EN ISO 6883:2014 Animal and vegetable fats and oils. Determination of conventional mass per volume (litre weight in air) (ISO 6883:2007)

MSZ EN ISO 12228-1:2014 Determination of individual and total sterols contents. Gas chromatographic method. Part 1: Animal and vegetable fats and oils (ISO 12228-1:2014) which has withdrawn the MSZ EN ISO 12228:2000

MSZ EN ISO 12872:2014 Olive oils and olive-pomace oils. Determination of the 2-glycerol monopalmitate content (ISO 12872:2010)

MSZ EN ISO 12873:2014 Olive oils and olive-pomace oils. Determination of wax content by capillary gas chromatography (ISO 12873:2010)

MSZ EN ISO 29822:2014 Vegetable fats and oils. Isomeric diacylglycerols. Determination of relative amounts of 1,2- and 1,3-diacylglycerols (ISO 29822:2009)

MSZ EN ISO 29841:2014 Vegetable fats and oils. Determination of the degradation products of chlorophylls a and a' (pheophytins a, a' and pyropheophytins) (ISO 29841:2009)

67.220.10 Spices and condiments

MSZ EN ISO 3493:2014 Vanilla. Vocabulary (ISO 3493:2014) which has withdrawn the MSZ EN ISO 3493:2007

67.240 Sensory analysis

MSZ EN ISO 8589:2010/A1:2014 Sensory analysis. General guidance for the design of test rooms. Amendment 1 (ISO 8589:2007/Amd 1:2014)

Withdrawn national standards from June to September, 2014

07.100.30

MSZ 3640-2:1987 Microbiological examination of meat and meat products. General guidance

MSZ 3640-11:1983 Microbiological examination of meat and meat products. Detection and enumeration of presumptive clostridium perfringens by MPN technique in liquid medium

MSZ 3640-12:1979 Microbiological examination of meat and meat products. Detection and determination of escherichia coli in liquid medium

MSZ 3640-19:1979 Microbiological examination of meat and meat products. Determination of the number of escherichia coli in solid medium

MSZ 3640-21:1983 Microbiological examination of meat and meat products. Enumeration of enterobacteriaceae by colony count technique in solid media

13.060.45

MSZ 12749: 1993 Quality of surface water, quality characteristics and classification

65.120

MSZ 6830-6:1984 Animal feeding stuffs. Determination of nutritive value. Determination of crude fat content with diethyl ether extraction

13.060.45

MSZ 12749:1993 Felszíni vizek minősége, minőségi jellemzők és minősítés

65.120

MSZ 6830-6:1984 Takarmányok táplálóértékének megállapítása. Nyersziórtartalom meghatározása di-etil-éteres extrahálással

MSZ 6830-10:1978 Takarmányok táplálóértékének megállapítása. Karbonáttartalom meghatározása takarmánymész-tartalom számításához

MSZ 6830-31:1981 Takarmányok táplálóértékének megállapítása. Atomabszorpciós spektrofotométerek takarmányvizsgálati előírásai

MSZ 6830-36:1985 Takarmányok táplálóértékének megállapítása. A-vitamin-tartalom meghatározása

MSZ 6830-37:1985 Takarmányok táplálóértékének megállapítása. E-vitamin-tartalom meghatározása

MSZ 6830-38:1985 Takarmányok táplálóértékének megállapítása. K₃-vitamin-tartalom meghatározása

MSZ 6830-41:1987 Takarmányok táplálóértékének megállapítása. Kolin-klorid-tartalom meghatározása takarmánypremixekben

MSZ 6830-42:1988 Takarmányok táplálóértékének megállapítása. Sztterigmatocisztin-tartalom meghatározása

MSZ 6978:1988 Mintavétel a takarmányok mikrobiológiai vizsgálatához

67.060

MSZ ISO 711:2007 Gabona és gabonatermékek. A nedvességtartalom meghatározása (alapvető referencia-módszer)

67.200.20

MSZ EN ISO 9167-2:2000 Repcemag. A glükózino-láttartalom meghatározása. 2. rész: Röntgenfluoreszcenciás spektrometriás módszer (ISO 9167-2:1994)

67.240

MSZ-08-0943:1989 Húskészítmények pontozásos érzékszervi bírálata

MSZ 6830-1:1983 Takarmányok táplálóértékének megállapítása. Érzékszervi vizsgálat

MSZ 9698-5:1978 Zöldségfélék vizsgálata. Érzékszervi vizsgálat

MSZ 9681-2:1984 Fűszerpaprika őrlemény vizsgálata. Érzékszervi vizsgálat

MSZ 20499-3:1985 Konzervált gyümölcszúpok. Szulfitmentesítéssel mintaelőkészítés





A kép illusztráció / The picture is illustration

MSZ 6830-10:1978 Animal feeding stuffs. Determination of nutritive value. Determination of carbonates for the calculation of calcium content

MSZ 6830-31:1981 Animal feeding stuffs. Determination of nutritive value. Instructions for using absorption spectrophotometer in feeding stuffs analyses

MSZ 6830-36:1985 Animal feeding stuffs. Determination of nutritive value. Determination of vitamin A content

MSZ 6830-37:1985 Animal feeding stuffs. Determination of nutritive value. Determination of vitamin E content

MSZ 6830-38:1985 Animal feeding stuffs. Determination of nutritive value. Determination of vitamin K₃ content

MSZ 6830-41:1987 Animal feeding stuffs. Determination of nutritive value. Determination of cholinechloride content in premixes of animal feeding stuffs

MSZ 6830-42:1988 Animal feeding stuffs. Determination of nutritive value. Determination of sterigmatocistin content

MSZ 6978:1988 Animal feeding stuffs. Sampling for microbiological test methods

67.060

MSZ ISO 711:2007 Cereals and cereal products. Determination of moisture content (Basic reference method)

67.200.20

MSZ EN ISO 9167-2:2000 Rapeseed. Determination of glucosinolates content. Part 2: Method using X-ray fluorescence spectrometry (ISO 9167-2:1994)

67.240

MSZ-08-0943:1989 Sensory analysis, qualification on points of meat products

MSZ 6830-1:1983 Animal feeding stuffs. Determination of nutritive value. Sensory analysis

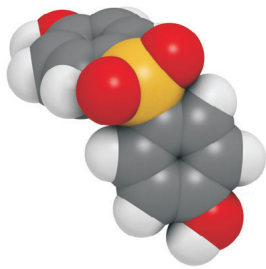
MSZ 9681-2:1984 Test method for ground paprika as spice. Sensory analysis

MSZ 9698-5:1978 Testing of vegetables. Sensory analysis

MSZ 20499-3:1985 Canned fruit pulps. Preparation of test sample for sensorial analysis with desulphytation

Additional information: Mrs Csilla Kurucz, standardization manager, e-mail: cs.kurucz@mszt.hu

Szigorúbbá válik a biszfenol besorolása



A biszfenol A (BPA) mesterséges vegyületet immár több mint 50 éve használnak a műanyagiparban. Mindezidáig a BPA-t elsősorban a reprodukció szempontjából határozták meg mérgező anyagként, amely irritáló hatással van a légutakra, és komoly szemkárosodást, illetve bőrzékenységet is okozhat. Az Európai Vegyi anyag-ügynökség (ECHA) Kockázatértékelési Bizottsága (RAC) azonban nemrég véleményezte a Francia Élelmiszer, Környezet, Munkaegészségügyi és Biztonsági Ügynökség ajánlását, és az ez alapján készülő új osztályozás szerint az első kategóriában sokkal szigorúbb szabályozási intézkedéseket hoznak majd, valamint kötelezővé teszik a BPA felhasználásával kapcsolatos megelőző intézkedéseket. Megtiltják továbbá az olyan keverék termékek értékesítését, amelyek BPA-t tartalmazhatnak. A többek között a CLP-szabályozást (Besorolás, Címkezés, Csomagolás) is magában foglaló döntést az Európai Bizottság hozza majd meg a fent említett vizsgálati anyag alapján.

More stringent BPA classification

Bisphenol A (BPA) is a synthetic chemical used for more than 50 years in the plastic industry. Until now, BPA has been subject to a harmonized classification as suspected of being toxic for reproduction. It is also currently classified as irritating to the respiratory tract, as a substance that can cause serious eye damage and may cause sensitization by skin contact. The Risk Assessment Committee (RAC) of the European Chemicals Agency (ECHA) issued an opinion in favour of the proposal of ANSES (French Agency for Food, Environmental and Occupational Health and Safety) on the basis of all data. A classification in category 1 will directly result in the application of more stringent regulatory measures, and in particular an obligation to put in place enhanced preventive measures for professional use of BPA, or prohibiting the marketing to consumers of mixtures containing BPA. The decision to include the harmonized

classification in CLP (Classification, Labelling, Packaging) settlement will be made by the European Commission on the basis of this review.

Növekvő antimikrobiális ellenállás

Az élelmiszer-eredetű fertőzések olyan gyakori okozói, mint a Salmonella vagy a Campylobacter jelentős ellenállást fedeztek fel a gyakran alkalmazott antimikrobiális szerekkel szemben – az EFSA ECDC (Európai Betegségmegelőzési és Járványvédelmi Központ) 2012-es beszámolója szerint. Az adatok alapján a kombinált rezisztencia a legkritikusabb fontosságú antimikrobiális szerek ellen ugyan alacsony maradt, tehát a zoonotikus (emberről állatra terjedő betegséget terjesztő) baktériumok által okozott komoly fertőzések esetén a megfelelő kezelési eljárások továbbra is rendelkezésre állnak, ám az a tény, hogy az antimikrobiális ellenállás gyakran előfordul, aggodalomra adhat okot. Amennyiben a baktériumok több antimikrobiális szerrel szemben is klinikailag ellenállóvá (multi-rezisztenssé) válnak, az általuk okozott fertőzések kezelése nagyon nehéz, vagy csaknem lehetetlenné válik. Az állatokban és élelmiszerekben élő baktériumoknál tapasztalt antimikrobiális rezisztencia (AMR) kifejlődése ráadásul az emberi betegségek kezelését is nehezítheti, hiszen az ellenálló baktériumok átterjedhetnek az állatról vagy élelmiszerről az emberre.



Increasing antimicrobial resistance

The bacteria most frequently causing food-borne infections, such as Salmonella and Campylobacter, show "significant resistance" to common antimicrobials, according to the EFSA ECDC (European Centre for Disease Control) Summary Report in 2012. Data show that combined resistance (co-resistance) to critically important antimicrobials remains low. While this means that treatment options for serious infections with these zoonotic

bacteria are available in most cases, the fact that antimicrobial resistance was commonly detected is cause for concern. If bacteria become clinically resistant to several antimicrobials (multidrug-resistance), treating the infections they cause can become more difficult or even impossible. In addition, the development of antimicrobial resistance (AMR) in bacteria in animals and food can also compromise the effective treatment of human infections, as resistant bacteria genes may be transferred to humans from animals and food.



Pesticidok és védett termények – az EFSA környezetvédelmi kockázatértékelési útmutatója

Az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság (EFSA) legújabb útmutatója ahhoz kíván megfelelő keretet biztosítani, hogy az üvegházakból származó termények által a környezetbe kerülő növényvédő szerek környezeti kockázatelemzését a megfelelő módon el lehessen végezni. A dokumentum rendelkezik arról, hogyan és mikor kell értékelni a földbe, talajvízbe, felszíni vizekbe vagy éppen a levegőbe jutott növényvédő szereket. Azzal is foglalkozik, milyen elemeket kell tartalmazniuk a környezetvédelmi kockázatértékelés expozíciós forgatókönyveinek – legyen szó talajhoz kötött, vagy talaj nélküli művelési rendszerről. Ez az útmutató hozzájárul az EFSA jelenleg is zajló munkájához, amelynek középpontjában a növényvédő szereknek a környezet-egészségügy területén betöltött szerepe áll.

Pesticides and protected crops – EFSA presents environmental risk assessment guidance

New guidance from the European Food Safety Authority (EFSA) provides a framework for carrying out environmental risk assessment of pesticides emitted from protected crops those grown in greenhouses and under cover. The document provides assi-

stance on how and when to assess pesticide emissions into soil, surface water, groundwater and the air. It also addresses what elements should be used in exposure scenarios for risk assessment – both for soil-bound and soil-less cultivation systems. The guide contributes to EFSA's ongoing work in the field of pesticides for the protection of environmental health.

Éttermi viselkedésformák

Az Élelmiszer-ellenőrző Hatósága (FSA) nemrég tett közzé egy rendkívül időszerű tanulmányt az allergiás és különböző ételintoleranciában szenvedő fogyasztók lehetőségeiről és éttermi étkezési szokásairól. Mindennek háttérét az Európai Unió Élelmiszer-Információs Szabályozása (FIC) hamarosan életbe lépő rendelete adja: 2014. december 13-tól az élelmiszeripari vállalkozások (beleértve az élelmiszerboltokat és az éttermeket is) kötelesek tájékoztatni a vásárlókat, amennyiben a meghatározott 14 allergén közül valamelyik a nem csomagolt és címkével nem ellátott élelmiszerek összetevőjét alkotja. Annak tekintetében, hogy a tájékoztatást milyen módon kötelesek megadni a fent említett kereskedelmi egységek, még meglehetősen rugalmas a rendelet. Az EU FIC által belistázott, szóban forgó 14 allergén a következő: a glutént tartalmazó gabonafélék, a rákfélék, a puhatestűek, a tojás, a földimogyoró, a dió, a szója, a tej, a mustár, a szeszamag, a zeller, a csillagfürt, továbbá a 10 mg/L, illetve 10 mg/kg szintet meghaladó kén-dioxid.



Eating out behaviours

The Food Standards Agency (FSA) has commissioned a topical new study on understanding the choices and eating behaviours of food allergic and intolerant consumers when eating out. From 13. December 2014, food businesses, including delicatessens and restaurants, will be required to provide information on the presence of fourteen allergens if used as deliberate ingredients in foods that are not packed. This is be-

cause the European Union (EU) Food Information Regulation (FIC) come into force. However, there is flexibility as to how this information is provided that this study will explore. The fourteen allergens as listed in the EU FIC are cereals containing gluten, crustaceans, mollusc, eggs, fish, peanuts, nuts, soya, milk, celery, mustard, sesame, lupin and sulphure dioxide at levels above 10mg/kg or 10 mg/litre.



Kanadában nem tartanak az akrilamidtól

A Kanadai Élelmiszer-vizsgáló Ügynökség (CFIA) különböző élelmiszeripari termékeken végzett márciusi rutinellenőrzése során egyetlen egy magas szénhidrogén-tartalmú élelmiszer-mintában sem találtak a biztonságos határértéket meghaladó szintű akrilamidot. A mesterségesen előállított akrilamidot számos területen használják, például a víztisztításban, a ragasztógyártásban, a papír- vagy a kozmetikai iparban. Természetes módon főleg azokban a nagy szénhidrogén-tartalmú ételekben fordulhat elő, amelyeket magas hőfokon kezeltek.

Canada: no concerns for acrylamide

As part of the Canadian Food Inspection Agency's (CFIA) routine testing of various food products, a study released March 21 did not find acrylamide in any samples of high carbohydrate foods at levels that would be considered unsafe consumption. Acrylamide is an industrial chemical produced for a variety of uses such as water treatment, and the production of glue, paper and cosmetics. It may also be formed naturally, but unintentionally, in high carbohydrate foods which are cooked or processed at high temperatures (e.g., fried, baked, toasted, grilled and roasted).

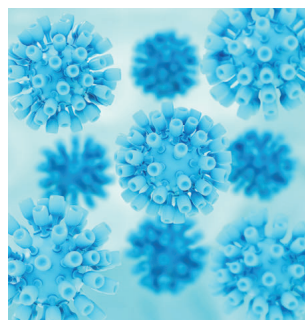
Hepatitis A vírusot találtak Új Zélandon

Az Új Zéland-i Kiemelt Iparágak Minisztériuma (MPI) nemrég ar-

ról tájékoztatta a fogyasztókat, hogy egy kisebb mennyiségű nyers gyümölcszsalítmány Hepatitis A vírussal fertőzhető. A gyümölcsök nem importból származtak, az országon belül termesztették azokat, és egy darab sem hagyta el Új Zélandot. Mivel a minisztérium szerint a fertőzés veszélye viszonylag alacsony, az MPI leginkább megelőzési céllal jelezte a hírt a lakosság felé, hogy aki esetleg érintett lehet, időben orvoshoz fordulhasson.

New Zealand: Potential for Hepatitis A in some Fruit

The New Zealand ministry for Primary Industries (MPI) has cautioned New Zealand consumers that a small quantity of fresh fruit sold late February and early March carries a relatively low risk that it has been contaminated with Hepatitis A virus. MPI is issuing this information as a precaution so that people with any related concerns about their health can contact their doctor. All fruit involved in this case was for domestic New Zealand supply and has not been exported. The possibility of infection is relatively low.



USA: Mindenki számára elérhető Salmonella-adatbázis

Az amerikai Járványügyi és Megelőzési Központ (CDC) jelentése szerint mostantól a nagyközönség számára is elérhetővé válik az elmúlt negyven év mérgező ételekkel kapcsolatos adatbázisa. Az adatok, amelyeket az állami és szövetségi egészségügyi hivatal gyűjtött össze, bőséges információt szolgáltat a Salmonelláról is, az egyik legfontosabb élelmiszer-eredetű baktériumról. Az Amerikai Egyesült Államok Salmonella Atlasza névre hallgató adatbázis az 1968 és 2011 közötti időszakban felbukkant 32, emberekből, állatokból vagy egyéb helyről izolált szalmonellatípust tartalmazza, első alkalommal az interneten bárki számára elérhető módon. Az adatokat népszerűségi, földrajzi és számos más kategória szerint rendszerezték. A CDC becslései alapján a szalmonel-

lózis évente több mint 1,2 millió megbetegedést, 23 000 kórházi kezelést és 450 halálesetet okoz.



USA: Salmonella data available for all

Forty years of data on a major cause of food poisoning is now available in the United States to the public, the food industry, and researchers in a new report from Centers for Disease Control and Prevention (CDC). The data, collected by state and federal health officials, provides a wealth of information on Salmonella, the top foodborne cause of hospitalisations and deaths in the United States. Available for hands-on web access for the first time, the Atlas of Salmonella in the United States, 1968-2011 summarizes surveillance data on 32 types of Salmonella isolates from humans, animals, and other sources. The information is organized by demographic, geographic and other categories. CDC estimates the salmonellosis causes more than 1.2 million illnesses each year in the United States, resulting in more than 23,000 hospitalizations and 450 deaths.



Németország: kevesebb Salmonella a pulykában

Az Európa-szerte végzett mérések és a pulykák körében végrehajtott Salmonella-ellenőrzések azt mutatják, hogy a levágás előtt megvizsgált szárnyasokban kevesebb Salmonellát találtak, mint az előző években – jelentette a Német Szövetségi Fogyasztóvédelmi és Élelmiszer-biztonsági Hiva-

tal (BVL). Mindazonáltal a zoonotikus kórokozók előfordulása az élelmiszer-láncban azt jelzi, hogy további intézkedésekre van szükség a vágóhidak higiénijának tekintetében. A rezisztencia- vizsgálatok ugyanis rámutatnak, hogy a használatok körében magasabb az antibiotikum-rezisztencia.

Germany: Less Salmonella in turkey and turkey meat

The EU-wide measurement and Salmonella control measures in poultry show success, according to the German Federal Office of Consumer Protection and Food Safety (BVL): when turkey at slaughter were compared to previous years, fewer Salmonella were detected. However, the results for occurrence of zoonotic agents along the food chain also indicate that further improvements in slaughter hygiene are required. Resistance studies show that there are higher rates of antibiotic resistance in farm animals.



Alacsony radioaktivitást mértek egy Hong Kong-i teaszállítmányban

Április 9-én a Hong Kong-i Élelmiszer-biztonsági Központ (CFS) és Környezeti Higiéniai Minisztérium jelezte, hogy egy zöldtea-szállítmány egyik tasakjából vett mintájában egy radioanalitikai vizsgálat során alacsony szintű radioaktivitást érzékeltek. A szóban forgó termék nem került kereskedelmi forgalomba Hong Kong-ban, a CFS pedig felvette a kapcsolatot az importcéggel, hogy utánajárjanak az esetnek.

Hong Kong: Low level radioactivity in Japanese tea bag

On 9 April, the Centre for Food Safety (CFS) of the Hong Kong Food and Environmental Hygiene Department detected a green tea bag sample, imported from Japan and collected at import level for radiation testing, with low levels of radioactivity. The product concerned had not entered the local market. The CFS has consulted with the importer concerned to follow up on the case.

Szerzőink / Authors:

Dr. Barna Sarolta igazgató, Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal Élelmiszerbiztonsági Kockázatértékelési Igazgatóság (H-1143 Budapest, Tábornok u. 2.). Élelmiszerbiztonság, kockázatértékelés.

Dr. Békés Ferenc az MTA külső tagja, igazgató FBFD PTY LTD. (NSW Ausztrália 34 Hull road Beecroft, NSW Australia 2119). Gabonakémia, élelmiszerkémia.

Dr. Belák Ágnes, egyetemi adjunktus, Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszék (H-1118 Budapest, Somlói út 14-16.). Élelmiszer mikrobiológia.

Bódi Barbara PhD hallgató, Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, Élelmiszeripari Gazdaságtan Tanszék (H-1118 Budapest, Villányi út 29-43.). Élelmiszergazdaság, fogyasztói kutatások.

Csik Gabriella főosztályvezető-helyettes, Magyar Szabványügyi Testület (H-1082 Budapest, Horváth M. tér 1.)

Csoka Mariann egyetemi tanársegéd, PhD hallgató, Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszerkémiai és Táplálkozástudományi Tanszék (H-1118 Budapest, Somlói u. 14-16). Élelmiszerek aroma komponenseinek vizsgálata (GC-MS).

Daróczy Lajos ügyvezető igazgató, Y-FOOD Kft., c. egyetemi docens (4100 Berettyóújfalú, Dózsa György utca 28/A.). Élelmiszeripari termékfejlesztés, méztermékek előállítása és forgalmazása.

Prof. Dr. Farkas József, D.Sc. az MTA rendes tagja, Budapesti Corvinus Egyetem Élelmiszer-tudományi Kara, (H-1118 Budapest, Ménesi út 45.) Professzor Emeritus, élelmiszer-tudomány, új élelmiszertartósítási technológiák, élelmiszer mikrobiológia.

Dr. Gulyás Márta mikrobiológus, Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal, Élelmiszer Mikrobiológiai Nemzeti Referencia Laboratórium (H-1095, Budapest, Mester utca 81.). Élelmiszer mikrobiológia.

Dr. Harangi János ügyvezető igazgató, FOODLAB Kft. (H-4032 Debrecen, Pilinszky u. 17.). Műszeres analitika, elválasztástechnika, kromatográfia, szerkezetvizsgálat, analitikai kémiai szoftverfejlesztés.

Holczhauzerné Faragó Judit, mikrobiológus, Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal, Élelmiszer Mikrobiológiai Nemzeti Referencia Laboratórium (H-1095, Budapest, Mester utca 81.). Élelmiszer mikrobiológia.

Dr. Kasza Gyula egyetemi adjunktus, Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, Élelmiszeripari Gazdaságtan Tanszék (H-1118 Budapest, Villányi út 29-43.). Élelmiszergazdaság, fogyasztói kutatások.

Kötelesné Suszter Gabriella, PhD hallgató, laboratóriumvezető-helyettes, WESSLING Hungary Kft. (H-1047 Budapest, Fóti út 56.). Növényvédő szerek analitikája (HPLC-MS/MS, GC-MS/MS).

Kurucz Csilla, szabványosítási menedzser, Magyar Szabványügyi Testület (H-1082 Budapest, Horváth M. tér 1.), szabványosítási ügyek.

László József kutatómunkás (WESSLING International Research and Educational Centre, H-1047 Budapest, Fóti út 56.).

Elválasztástechnika, műszeres analitikai fejlesztések (HPLC-MS/MS, GC-MS/MS).

Dr. Mohácsiné Farkas Csilla, egyetemi docens, a biológiai tudományok kandidátusa Budapesti Corvinus Egyetem Élelmiszer-tudományi Kara, Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszék (H-1118 Budapest, Ménesi út 45.). Élelmiszer mikrobiológia.

Nagy Éva biomérnök BSc és MSc hallgató, Debreceni Egyetem, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar (H-4032 Debrecen, Böszörményi út 138.). Műszeres analitika, kromatográfia, élelmiszervizsgálat.

Dr. Németh Zsuzsanna mikrobiológus, Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal, Élelmiszer Mikrobiológiai Nemzeti Referencia Laboratórium (H-1095, Budapest, Mester utca 81.). Élelmiszer mikrobiológia.

Dr. Prokisch József egyetemi docens, Debreceni Egyetem, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar, Állattudományi, Biotechnológiai és Természetvédelmi Intézet (H-4032 Debrecen, Egyetem tér 1.). Innovatív élelmiszerek fejlesztése, szelén nanorészecskék előállítása és alkalmazása.

Prof. Dr. Szabó S. András, az MTA doktora, Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, Élelmiszer Fizika Közhasznú Alapítvány (H-1118 Budapest, Somlói u. 14-16), illetve Ward Mária Gimnázium (1056 Budapest, Molnár u. 4.), fizikai módszerek alkalmazása az élelmiszer-analitikában

Dr. Szeitzné Szabó Mária, PhD, címzetes egyetemi docens, igazgatóhelyettes, Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal Élelmiszerbiztonsági Kockázatértékelési Igazgatóság (H-1143 Budapest, Tábornok u. 2.). Élelmiszerbiztonság, kockázatbecsülés.

Dr. Szigeti Tamás János, értékesítési és üzletfejlesztési igazgató, WESSLING Hungary Kft. H-1047 Budapest, Fóti út 56.). Élelmiszerbiztonság, környezetvédelem.

Tolnay Pál tanszéki mérnök, Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszerkémiai és Táplálkozástudományi Tanszék (H-1118 Budapest, Somlói u. 14-16), Táplálkozás optimalizálás matematikai modellezése (2013-ban az Év Oktatója a Budapesti Corvinus Egyetemen)

Kiadó / Publisher: WESSLING Nemzetközi Kutató és Oktató Központ Közhasznú Nonprofit Kft. / WESSLING International Research and Educational Centre Nonprofit Beneficial Ltd.

Felelős kiadó / Director: Dr. Zanathy László ügyvezető igazgató / Dr. László Zanathy CEO

Főszerkesztő / Editor in chief: Dr. Szigeti Tamás János / Dr. Tamás János Szigeti

Szerkesztő / Editor: Szunyogh Gábor / Gábor Szunyogh

Jogi rovat / Legal column: Dr. Martin Andrea /Dr. Andrea Martin

Angol fordítás / English translation: Dr. Hantosi Zsolt és Balázs Gábor / Dr. Zsolt Hantosi and Gábor Balázs

Szerkesztőbizottság / Editorial Board: Ambrus Árpád Dr. (ny. egy. tanár, NÉBIH főtanácsadó) • Bánáti Diána Dr. (c. egyetemi tanár, BCE; tud. igazgató, ILSI Brüsszel) • Barna Sarolta (ig. NÉBIH KÉI) • Békés Ferenc Dr. (az MTA külső tagja, igazgató, FBFD PTY LTD NSW Ausztrália) • Biacs Péter Dr. (ny. egy. tanár, BCE) • Biró György Dr. (ny. egy. tanár, SOTE Egészségtudományi Kar) • Boross Ferenc Dr. (EOQ MNB, üv. elnök) • Csapó János. Dr. (egy. tanár, Sapientia Egyetem Kolozsvár) • Farkas József Dr. (ny. egy. tanár, akadémikus) • Gyimes Ernő Dr. (egy. docens, Szegedi Egyetem Mérműki Kar) • Gyaraky Zoltán (FM Élelmiszerfeldolgozási Fő., főosztály vez.) • Győri Zoltán Dr. (egy. tanár, SZIE Gödöllő) • Kovács Béla Dr. (egy. tanár, Debreceni Egyetem) • Kurucz Csilla (szabványosítási menedzser, MSZT) • Maráz Anna Dr. (egy. tanár, BCE) • Molnár Pál Dr. (EOQ MNB elnök, egyetemi tanár) • Nagy Edit (főtitkár, MAVÍZ) • Salgó András Dr. (egy. tanár, BME) • Sipos László Dr. (egy. adj., BCE) • Sohár Pálné Dr. (ny. fő. vez., NÉBIH) • Szabó S. András Dr. (egy. tanár, BCE) • Szeitzné Szabó Mária Dr. (ig. h., NÉBIH KÉI) • Szigeti Tamás János Dr. (WESSLING Közhasznú Nonprofit Kft., főszerkesztő) • Szunyogh Gábor (WESSLING Közhasznú Nonprofit Kft., szerkesztő) • Tömösközi Sándor Dr. (egy. docens, BME) • Varga László Dr. (egy. Tanár, Ny-Mo Egy. Élelmiszer-tud. Intézet) • Zanathy László Dr. (felelős kiadó, ügyvezető ig., Wessling Közhasznú Nonprofit Kft.)

Nyomdai előkészítés / Layout dtp: Adworks Kft., E-mail: info@adworks.hu, **Nyomda / Press office:** Possum Kft./Possum Ltd. (H-1093 Budapest, Hungary, Kőzraktár utca 28.)

Elérhetőségeink / Contact: H-1047 Budapest, Hungary, Fóti út 56., Telefon/Phone: +36 1 872-36-00, +36 1 872 36 21; 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:** Bácsy Rita, Tel. +36 1 872-3633, E-mail: eviko@wirec.eu, **Előfizetés díj egy évre/Subscription for one year: bruttó 4000 Ft. Digitális előfizetés: bruttó 3600 Ft. /14 €.** Digital subscription for one year: 12 €, A lap 1000 példányban jelenik meg, negyedévente. / This journal appears in 1,000 copies every quarter.

Minden jog fenntartva! / All right reserved! A felirattal nem rendelkező képek illusztrációk. / The pictures without any title 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 Élelmiszerbiztonsági Hivatallal (NÉBIH) együttműködve, az Európai Minőségügyi Szervezet Magyar Nemzeti Bizottsága (EOQ MNB) támogatásával. / This Journal of Food Investigation is issued by the WESSLING International Research and Educational Centre Beneficial Nonprofit Ltd. with cooperation the National Food Safety Authority (NÉBIH), and with the support of European Organization for Quality Hungarian National Committee (HNC for EOQ).

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 Nemzetközi Kutató és Oktató
Központ Közhasznú Nonprofit Kft. (WIREC)



n é b i h
Termőföldtől az asztalig



EOQ MNB
Európai Minőségügyi Szervezet
Magyar Nemzeti Bizottság

A 2014. évi 4. szám tervezett tartalma

The planned content of the issue No 4 of 2014

Szerkesztőségünkbe folyamatosan érkeznek kéziratok, amelyek közül Szerkesztőbizottságunk véleménye alapján választjuk ki a soron következő lapszámok tartalmát. Az Élelmiszervizsgálati Közlemények 2014. évi 3. számába tervezett kéziratok közül az alábbiakat a 4. számban fogjuk megjelentetni:

Our Editorial Room is continuously receiving manuscripts. From these papers we are selecting the content of the next issue based on the opinion of the members of Editorial Board. From the planned articles chosen to issuing in the third number of 2014, will appear in the fourth issue:



Alakfelismerési kutatások néhány eredménye érzékszervi élelmiszermínősítő módszerek továbbfejlesztéséhez sütőipari termékekre (Molnár Pál)
Some results of pattern recognition research for the improvement of sensory food testing methods of bakery products (Pál Molnár)



A fűszerpaprika mikrobiológiai paramétereinek jogszabályvizsgálata, valamint szerbiai gyakorlati alkalmazása (Kovács Sárkány Hajnalka és Kovács Vilmos)
Legal regulation of paprika laws for the microbiological parameters of paprika, and their practical application in Serbia (Hajnalka Kovács Sárkány and Vilmos Kovács)



Búza szemkeménységének meghatározása magmérő eljárásokkal (Szabó P. Balázs, Véha Antal, Gyimes Ernő)
Measurement of wheat grain hardness using kernel investigating methods (Balázs Szabó P., Antal Véha, Ernő Gyimes)



Nemzetközi és hazai zöldség- és gyümölcsfogyasztás, módszertani kérdések (Székely Géza, Losó Viktor, Tóth Arnold)
International and domestic fruit and vegetable consumption, methodological issues (Géza Székely, Viktor Losó, Arnold Tóth)



Hat Sigma az élelmiszermelésben – a biológiai folyamatok optimalizálásának kihívásai (Detert Brinkmann, Rolf Ibald, Thorsten Klauke és Brigitte Petersen)
Six sigma in the food production – Challenges of optimization of biological processes (Detert Brinkmann, Rolf Ibald, Thorsten Klauke és Brigitte Petersen)

**A fentiekén kívül az év végi számba terveink szerint az alábbi témák közül fogunk választani:
*In addition for the year-end issue we plan to choose the next topics:***



Előrejelző mikrobiológiai modellezés, a kvantitatív mikrobiológiai kockázatbecslés eszköze (Farkas József és Mohácsiné Farkas Csilla)
Predictive microbiological modelling, the quantitative microbiological risk assessment tool (József Farkas and Csilla Mohácsiné Farkas)



A mérési hibával összefüggő alapvető megfontolások különös tekintettel a húskészítmények vizsgálatára (Körmendy László és Zukál Endre)
Basic considerations related to the measurement error especially associated with the investigation of meat products (László Körmendy és Endre Zukál)



Magyarországról származó, különböző vízminták arzéntartalmának vizsgálati tapasztalatai (Szigeti Tamás János, Lakos István)
Analytical experiences of measurement of arsenic content from different, Hungarian origin water samples (Tamás János Szigeti, István Lakos)

Az Élelmiszervizsgálati Közlemények Szerkesztősége fenntartja magának a jogot, hogy a soron következő lapszámok tartalmát az előző lapszámban nyilvánosságra hozott tervektől eltérően állítsa össze, amiért Olvasóink szíves megértését kérjük.

The Editorial Room of Journal Of Food Investigation keeps the right to modify the content of the next issues differently from the previous plan published in former numbers. For this reason we are asking our readers' understanding.

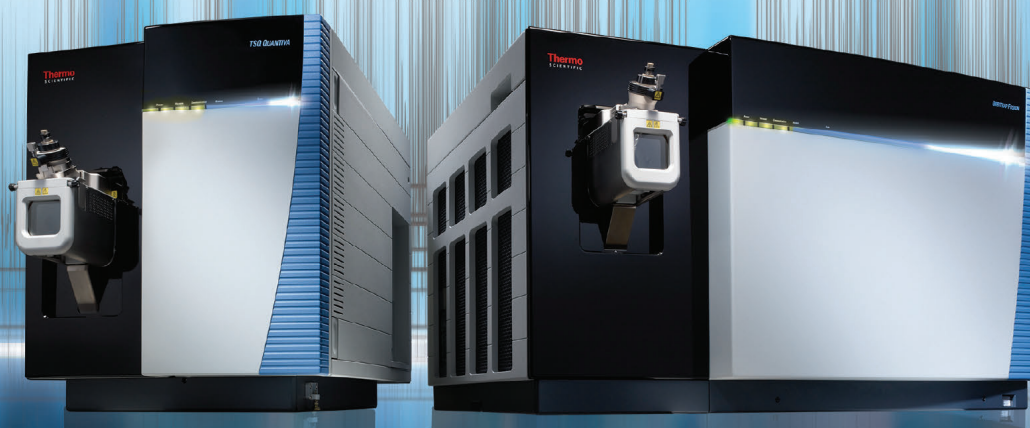
Dr. Szigeti Tamás János
Dr. Tamás János Szigeti
Főszerkesztő / Editor in chief

Tömegspektrometria emelt szinten.

A Thermo Scientific™ egyedülálló technológiákat alkalmazó új tömegspektrométerei – az Orbitrap Fusion™ Tribrid™ HR-AM MS, valamint a TSQ Endura™ és TSQ Quantiva™ hármaskvadrupol MS-ek – kompromisszumok nélküli teljesítményt és használhatóságot kínálnak az igényes rutin analitikától a legmagasabb szintű kutatásig. Ezek a berendezések a Thermo Scientific nano RSLC, UHPLC és akár multiplexelt online SPLC rendszereivel együtt a mérésekben elérhető információmennyiségben, a kimutatási határokon és a mérési hatékonyságban is a tömegspektrometria teljesen új szintjét képviselik.

Miért lenne a kevesebb is elég?

• thermoscientific.com/mstransformed



Orbitrap Fusion™ LC/MS
rendszer
Egyedülálló analitikai teljesítmény



A TSQ Endura™ hármaskvadrupol LC/MS rendszer
Egyedülálló ár/érték arány



A TSQ Quantiva™ hármaskvadrupol LC/MS rendszer
Extrém kvantitatív teljesítmény



Innovatív szoftverek
Gyors módszerfejlesztés a legkorszerűbb
kezelői felületen

Kizárólagos képviselet:

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

20 éves

UNICAM

Magyarország Kft.