

# 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 2. SZÁM

2014. JÚLIUS 1.

## Peszticidmaradékok eloszlása az élelmiszerekben

Distribution of pesticide residues in foods

Interjú Oravecz Mártonnal,  
a NÉBIH elnökével

*Clostridium difficile*  
- egy „nehéz” baktérium

Telepszámok szerepe az  
ivóvízszolgáltatásban

Arzénvizsgálatok ivóvízből és  
élelmiszerekből

Folyékony élelmiszerek  
elemtartalmának ICP-MS vizsgálata

Taurintartalom meghatározása  
energitalokban

*“Breaking out of the mystery of authority” - Interview with dr. Marton Oravecz, president of the National Food Chain Safety Office • Clostridium difficile: a new food safety hazard? • The role of colony count in water supply • Determination of arsenic in drinking water and several food items • ICP-MS element analyses of liquid foods • Determination of the taurine content of energy drinks and dietary supplements*





## TARTALOM – CONTENTS



„Kitörünk a hatóság misztériumából!” - Interjú dr. Oravec Mártonnal, a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal elnökével.  
(Szigeti Tamás János, Szunyogh Gábor)

„Breaking out of the mystery of authority” - Interview with dr. Márton Oravec, president of the National Food Chain Safety Office (NÉBIH).  
(Tamás János Szigeti, Gábor Szunyogh)



Kutatás – fejlesztés – innováció: Stratégiai szemlélet és partnerség a kutatásban  
(Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal – NÉBIH)

Research – development – innovation: Strategic approach and partnership in research (National Food Chain Safety Office – NÉBIH)



Az élelmiszerek növényvédőszer-maradék tartalma ellenőrzésének elvi alapjai és gyakorlati megvalósítása  
(Ambrus Árpád, Farkas Zsuzsa, Horváth Zsuzsanna, Kötelesné Suszter Gabriella)

Principles and practices of control of pesticide residues in food  
(Árpád Ambrus, Zsuzsa Farkas, Zsuzsanna Horváth, Gabriella Suszter)



Clostridium difficile: új élelmiszer-biztonsági veszély?  
(Farkas József és Mohácsiné Farkas Csilla)

Clostridium difficile: a new food safety hazard?  
(József Farkas and Csilla Mohácsiné Farkas)



Telepszámok szerepe az ivóvízszolgáltatásban  
(Párkány-Simon Beatrix, Dr. Brumbauer Anikó)

The role of colony count in water supply  
(Beatrix Párkány-Simon, Dr. Anikó Brumbauer)



Arzénvizsgálatok ivóvízből és élelmiszerekből  
(Sugár Éva, Mihucz Viktor Gábor, Zaráy Gyula)

Determination of arsenic in drinking water and several food items  
(Éva Sugár, Viktor Gábor Mihucz, Gyula Zaráy)



Folyékony élelmiszerminták destruktív minta-előkészítést nem igénylő nyomelemtartalom-meghatározási lehetőségei induktív csatolású plazma tömegspektrométerrel (Soós Áron – András Dávid – Kovács Béla)

Possibilities of trace element content determination in liquid foods without destructive sample preparation using inductively coupled plasma mass spectrometry  
(Áron Soós – Dávid András – Béla Kovács)



Taurintartalom meghatározása energitalokban és étrend-kiegészítőkből HPLC-MS/MS módszerrel  
(Szilvássy Blanka, Schreiberne Molnár Erzsébet, Iglóváriné Molnár Mária)

Determination of the taurine content of energy drinks and dietary supplements using HPLC-MS/MS (Blanka Szilvássy, Erzsébet Schreiberne Molnár, Mária Iglóváriné Molnár)



Nemzeti szabványosítási hírek (Kurucz Csilla, Csík Gabriella)

Review of national standardization (Csilla Kurucz, Gabriella Csík)



Kitekintő  
Outlook



### Kedves Olvasóink!

Közhely, de igaznak tűnik a vélekedés, hogy az ember ideje negyvenen túl logaritmikus sebességgel repül. Milyen reményei vannak akkor egy főszerkesztőnek, ha egy 60 esztendő lapot próbál életben tartani és már ő maga is jócskán túl van az ötödik ikszen?

Mintha csak tegnap izgultunk volna az Élelmiszervizsgálati Közlemények 60. évfolyam, 2014. évi 1. számának útjára bocsátásakor, és máris itt van a második szám lapzártá, amikor az utolsó simításokat végezzük szaklapunk arculatán.

Büszkék vagyunk arra, hogy az élelmiszerek minőségellenőrzésével foglalkozó periodikánk kiadásában partnerként üdvözölhetjük a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatalt és munkatársait. E partnerség jegyében készítettük egy interjút a NÉBIH vezetőjével, *Dr. Oravec Márton* elnök úrral, akivel a jelenlegi felelős tisztsége betöltéséig megtett szakmai útjáról, az általa vezetett intézmény jelenéről és távlati céljairól beszélgettünk velünk.

A nyár a zöldség- és gyümölcsfogyasztás kiemelt időszaka. Ezért nyári számunk vezető témájaként a zöldségek és gyümölcsök növényvédő szer-maradék tartalmának laboratóriumi mérését megelőző mintavételt terhelő hibák és statisztikai bizonytalanságok elemzését választottuk *Ambrus Árpád* professzor és munkatársainak műhelyéből. Munkájuk egyik értékes eredménye az a megállapítás, hogy a növényvédő szerek maradáknak vizsgálati eredményeit elsősorban nem a laboratóriumi analízis mérési bizonytalansága, hanem a mintavételből származó, az előbbinél sokkal nagyobb szórást tanúsító mintavételi bizonytalanság is terheli.

Második cikkünk – *Farkas József* akadémikus és munkatársa írása – Európában és sajnos csaknem az egész világon terjedő, az élelmiszerhigiéniához is kapcsolható mikrobiológiai veszéllyel, a *Clostridium difficile* térhódításával foglalkozik. A mikrobiológiával kapcsolatos fejtegetéseket *Párkány-Simon Beatrix* és munkatársa dolgozatával folytatjuk, amelyben az ivóvízminták vizsgálatánál kapott telepszám-értékek jelentőségéről, értelmezéséről olvashatnak. Szintén az ivóvíz vizsgálatához kapcsolódik *Sugár Éva* és munkatársai cikke. A szerzők több megye ivóvizének speciációs elemzését végezték el HPLC-ICP-MS technikával abból a célból, hogy megbecsülhessék, az ivóvizekben oldott arzénformák milyen veszélyt jelenthetnek a fogyasztók számára. Munkájuk külön értéke az is, hogy dolgozatukat a hazai táplálkozási szokások szerint leggyakoribb élelmiszerek arzén-tartalmának elemzésével is kiegészítették.

Ha már az elemanalitikai témakört említettük: *Kovács Béla* professzor és munkatársa a folyékony halmazállapotú élelmiszerek, főként borok, sörök de más termékek, gyümölcslevek, tejek és tejkészítmények roncsolásmentes mintaelőkészítéséhez dolgozták ki egy eljárást ICP-MS alkalmazásával végzett elemanalitikai vizsgálatokhoz. *Szilvássy Blanka* és munkatársai az energiaitalok taurintartalmának meghatározására fejlesztettek egy HPLC-MS-MS módszert, amelynek alkalmazásával nagy mennyiségű mintát képesek viszonylag rövid időn belül elemezni.

A nagyvilágban zajló, az élelmiszerek vizsgálatával, biztonságával kapcsolatos eseményekről „Kitekintő” című rovatunkban olvashatnak, nyári számunkat pedig a tavaszihoz hasonlóan hagyományteremtő módon a szabványosítás híreivel zárjuk *Kurucz Csilla* és *Csik Gabriella*, az MSZT felelős munkatársainak összefoglalója alapján.

Szerkesztőségünkbe továbbra is várjuk periodikánkkal kapcsolatos kérdéseiket, véleményeiket és természetesen kézirataikat is, amelyeket a Szerkesztőbizottság véleménye alapján örömmel teszünk közzé lapunk hasábjain. Olvasóinknak sikeres munkát, kellemes pihenést és jó olvasást kívánok!

  
Dr. Szigeti Tamás János  
főszerkesztő

### Dear Readers,

It is a cliché, but it seems to be true that a man's time over forty flies at a logarithmic rate. So what can an editor in chief hope if he's trying to keep a 60-year-old journal alive, when he himself is well over fifty?

It feels like it was just yesterday that we were very excited to release the Journal of Food Investigations' first issue of 2014 of volume 60, and now the deadline is already here for issue no. 2, when there is time to put the finishing touches on the image of our magazine.

We are proud to have, as partners in publishing our periodical in the field of quality control of foods, the National Food Chain Safety Office (NÉBIH) and its employees. In the spirit of this partnership, the head of NÉBIH, president *Dr. Márton Oravec* was interviewed, discussing his professional life before taking his current office, and the present and the future goals of the institute led by him.

Summer is the major time of the year for fruit and vegetable consumption. Therefore, analysis of errors and statistical uncertainties of samplings preceding the laboratory analysis of the pesticide residue content of fruits and vegetables was chosen as the leading topic of our summer issue, from the workshop of professor *Árpád Ambrus* and his colleagues. One of the valuable results of their work is the statement that the uncertainty of the analytical results of pesticide residue measurements is caused primarily not by the laboratory analysis, but by the sampling uncertainty, having a much larger standard deviation than the former.

Our second article, the work of academician *József Farkas* and his colleague, is about the spreading, not only in Europe, but, unfortunately, all over the world, of *Clostridium difficile*, a microbiological hazard that can also be linked to food hygiene. Discussions related to microbiology are continued with the paper of *Beatrix Párkány-Simon* and her colleague, in which you can read about the significance and the interpretation of colony count values obtained during the analysis of drinking water samples. Also related to drinking water analysis is the article of *Eva Sugár* and her coworkers. Speciation analysis of drinking waters from several counties was performed by the authors using HPLC-ICP-MS in order to be able to estimate the risk posed to consumers by different forms of arsenic dissolved in drinking waters. What adds special value to their study is that it was supplemented by the analysis of the most common foods according to domestic nutritional habits. Talking about the topic of elemental analysis: a non-destructive sample preparation method for liquid foods, mainly wines, beers, but also for other products, fruit juices, milk and dairy products was developed by *Áron Soós* and his colleague for application in elemental analyses performed using ICP-MS. An HPLC-MS-MS method, suitable for the analysis of a large number of samples within a relatively short time, was developed by *Blanka Szilvássy* and her coworkers for the determination of the taurine content of energy drinks.

You can read about world events related to food testing and food safety in our column titled „Looking around”, and our summer issue, similarly to the spring one, creating a new tradition, is concluded with standardization news, based on the summary of the responsible associates of Hungarian Standard Institution (MSZT), *Csilla Kurucz* and *Gabriella Csik*.

Our editorial office will continue to welcome your questions and comments regarding our periodical and, of course, also your manuscripts which we will be happy to publish in our journal, based on the decision of the Editorial board. We wish all our readers success in their work, a pleasant vacation and a good reading!

Dr. Tamás János Szigeti  
Editor in chief







Szigeti Tamás<sup>1</sup>, Szunyogh Gábor<sup>1</sup>

A riport 2014. május 15-én készült a NÉBIH elnökének irodájában

# „Kitörünk a hatóság misztériumából!”

**Interjú dr. Oravec Mártonnal, a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal elnökével.**

Partneri viszony a vállalkozásokkal, hatósági jogkör, szorosabb nemzetközi és tudományos kapcsolatok, nyitás a közvélemény felé, tudásbázis kialakítása, összefogottabb és egységesebb laborirányítási rendszer, kockázatelemzésre alapuló ellenőrzés – csak néhány címszó azok közül az érdekes témák közül, amelyekről a lapunkat is támogató NÉBIH elnökével beszélgettünk.

## **Melyek jelenleg a NÉBIH legfontosabb feladatai?**

A NÉBIH a Vidékfejlesztési Minisztérium fennhatósága alatt működik. Míg a minisztériumnak elsősorban a stratégia- és jogalkotás a feladata, a NÉBIH megalakulása óta az operatív végrehajtás, a megyék szakmai irányításának szerepkörét tölti be, nemzetközi referencialaboratóriummként funkcionál és hatósági vizsgálatokat végez a laboratóriumokban. A tavaly elfogadott Élelmiszerlánc-biztonsági Stratégiában a hatóság a következő tíz évre megfogalmazta a legfőbb célkitűzéseket, a közeljövő feladata tehát az, hogy ezeket a gyakorlatban is megvalósítsuk.

Több fajta szervezetet irányítunk, számos telephelyen, az ország szinte valamennyi megyéjében van laboratóriumunk, végzünk valamilyen fontos feladatot. Az épületállomány átkerült a kormányhivatalokhoz, a laboratóriumok pedig a mi központunkhoz. Ennek köszönhetően sokkal közvetlenebb lett velük a kapcsolat, és könnyebbé vált az irányítás. A minél összefogottabb, egységesebb, a hatósági munkát kiszolgáló és megerősítő rendszerre nagy szükség is van, hiszen hatalmas laborkapacitást kaptunk (több mint negyven egységünk van), a közel 1100 munkatársunk 70 százaléka laboratóriumban dolgozik.

## **Mi a helyzet a hatósági jogkörökkel?**

Az elsőfokú hatósági jogkör a megyéknél, járásoknál van, a megyei elsőfokú ügyek esetén a másodfokú jogkör nálunk van, ez egyfajta felügyeleti jogkörnek tekinthető. A Kiemelt Ügyek Igazgatósága a fekete- és a szürkegazdaság elleni küzdelemben játszik kulcs-

szerepet, ugyanis szükség van egy olyan szerkezeti egységre, amelyik más módszerekkel (például rajtaütésekkel) is fel tud lépni.

Hozzáteszem, hogy 2012 óta a NÉBIH elsőfokú, közvetlen hatósági jogkörben is eljárhat: közvetlenül bírságozhat, intézkedhet, sőt még közvetlen mintavételre is van jogköre. Néhány területen pedig csak a NÉBIH jár el elsőfokon, például a nem állam által működtetett laboratóriumok engedélyezése és ellenőrzése során.

## **Az élelmiszerbiztonság kapcsán az uniós szabályozással már egyre többen tisztában vannak. De vajon mi történik azokkal az élelmiszerekkel, amelyek egy harmadik országból érkeznek hozzánk?**

Ezek nagyrészt tengeri kikötőkbe, tehát nem közvetlenül hozzánk érkeznek. Ami az ellenőrzést illeti, a hatóság feladata az élelmiszerek másodlagos vizsgálata. Ez azt jelenti, hogy a magyarországi forgalmazónak a 3/2010-es jogszabály értelmében be kell jelentenie az árut, a hatóság pedig azonnal kockázatelemzés alá vonja azt. A harmadik országok állati eredetű élelmiszereit a bizonyítványok alapján közvetlenül az Unió egyezteteti le. Az áru befogadásának a feltétele az uniós jogszabályoknak való megfelelés.

## **Ha már a külföldnél tartunk. Mit tud elmondani a NÉBIH nemzetközi kapcsolatairól?**

A nemzetközi kapcsolatok egyre nagyobb hangsúlyt kapnak a hivatal munkájában, szorosan együttműködünk a nemzetközi szervezetekkel. Szeretném

<sup>1</sup> Wessling HUNGARY Kft.



kiemelni, hogy EFSA- fókuszpontként (EFSA focal point) működünk. Szoros a kapcsolat a Hivatal és a WHO/FAO Codex Alimentarius Bizottságával is. A Codex Bizottság munkájában a jelenleginél még több szakmai területen szeretnénk közreműködni. Nagy megtiszteltetés volt számomra, hogy az idén én nyithattam meg a Codex Bizottság soron következő Méréstechnikai, Analitikai és Mintavételi rendezvényét, a CCMAS Konferenciát. A konferencián az ENSZ tagállamaiból érkeznek hozzánk az élelmiszerek vizsgálatában érdekelt szakemberek: analitikusok, állami szakigazgatási tisztviselők, nemzetközi szervezetek képviselői. Az idén márciusban rendezett eseményen mintegy 70 ország, 90 delegáltja 5 napon keresztül vitatta meg a nemzetközi szakmai közéletben fontos analitikai, módszertani és mintavételi eljárások kérdéseit. Kimagasló szakmapolitikai előnynek tartom, hogy immár évtizedek óta Magyarország ad otthont e rendezvénynek, amelyet a mi hatóságunk bonyolít le. Szeretnénk, ha a Konferenciát a jövőben is Magyarország rendezhetné. Kiemelendő, hogy Hivatalunk immár harmadik alkalommal is a Nemzetközi Atomenergia-ügynökség Együttműködő Központja lett, amely funkciót a világon egyedül töltünk be újabb 4 évre.

vállalkozás, amelyik több információt szolgáltat magáról, és folyamatosan javul, számíthat arra, hogy sokkal kevesebbet járunk a „nyakára”.

Szeretném hangsúlyozni, hogy kölcsönös, átlátható és nyitott viszonyrendszerre törekszünk az általunk vizsgált vállalkozásokkal, amelyeket a partnereinknek tekintünk! A tisztességesen működő cégek a jövőben erre a partneri megközelítésre számíthatnak. Viszont azok, amelyeknél komoly hiányosságokat találtunk, természetesen sokkal szigorúbb bánásmóddal kénytelenek szembesülni.

### **Mi a helyzet a mintavétel akkreditált státuszával?**

A jelenleg hatályos uniós szabályozás szerint a hatóságnak nem kell a mintavétel területén akkreditálnak lennie, azonban minden esetben szakszerűen és jogszzerűen kell a mintát venni. A mintavételi aktus utáni mintakezelési eljárás viszont már akkreditálható, hiszen a közigazgatási intézkedést megalapozó mintavétel, majd laboratóriumi vizsgálat során a szakszerű mintakezelésre már minőségirányítási eljárásokat kell alkalmazni. Ez alatt pl. a minta szabályszerű jelölésére, megfelelő hőmérsékleten való szállítására és tárolására, illetve a mintatípusnak megfelelő időn

## **„Kölcsönös, átlátható és nyitott viszonyrendszerre törekszünk az általunk ellenőrzött vállalkozásokkal”**

Ami a konkrét nemzetközi együttműködésekkel, kiemelt fontosságú a mintavétel és a vizsgálatok még szorosabb összehangolása nemzetközi szinten – hogy csak egy példát említsék a sok közül. A technológia fejlődésével ugyanis egyre kisebb szennyeződések is ki tudunk mutatni, ehhez azonban hozzá kell igazítani a mintavételi eljárásokat is, hogy valóban pontos eredmények szülessenek!

**Beszéljünk kicsit a kockázatelemzés kérdéséről! Ennek értelmében a hatóság aszerint ellenőrizné a gyártókat, forgalmazókat, vendéglátóhelyeket, hogy azok milyen mértékben tanúsítanak jogkövető magatartást, és az általuk előállított termékek természetüknél fogva milyen élelmiszerbiztonsági kockázatot jelentenek. Hol tart ez az ügy?**

A mintegy 120 ezer, Magyarországon tevékenykedő élelmiszervállalkozó rendszeres ellenőrzése már önmagában komoly technikai kihívás elé állítja a szervezetet. Az Európai Unió is megköveteli a kockázatalapú megközelítést, amit mi úgy próbálunk megvalósítani, az elméletből a gyakorlatba átültetni, hogy kockázatalapú tervezési algoritmusokkal, ezeket segítő informatikai modulokkal dolgozunk. Az az ellenőrzött

belül elindított laboratóriumi vizsgálatra gondolok. Különös gonddal kell eljárunk a mikrobiológiai vizsgálatok céljára vett mintavétel során. Biztosítanunk kell, hogy a mintavétel időpontja és a laboratóriumi vizsgálat megkezdése között az élelmiszerminták mikrobiológiai állapota csak oly mértékben változzék meg, ami nem veszélyezteti a mintáról való ítéletalkotás helyességét.

Fizikai, kémiai és érzékszervi vizsgálatok céljára vett mintavétel esetén a megmintázott tétel tulajdonosának jogában áll a helyszínen intézkedő szakembertől ellenmintát kérni annak érdekében, hogy az esetlegesen felmerülő viták eldöntésére rendelkezésre álljon olyan minta, amelyet a mintavétel során dézsmamentesen közösen lezártak, és a minta jellegének megfelelő körülmények között tároltak. Bizonyos felmérésekre vizsgálatok céljára végzett mintázás esetén nem szükséges ellenmintát készíteni, ha a vizsgálatokat nem követi szakigazgatási intézkedés. Mikrobiológiai vizsgálatok esetén a természeti törvényekből következően sajnos nem értelmezhető az esetleges ellenminta vizsgálatának összevetése az „éles” mintavételt követő vizsgálati eredménnyel.



## **„Breaking out of the mystery of authority”**

**Interview with dr. Márton Oravec, president of the National Food Chain Safety Office (NÉBIH).**

Tamás Szigeti, Gábor Szunyogh

**Partnership with businesses, public authority, closer international and scientific relations, opening to the public, development of a knowledge base, a more coherent and uniform laboratory management system, inspections based on risk assessment – just a few keywords from the interesting topics that were discussed with the president of NÉBIH, one of the organizations supporting our journal, NÉBIH.**

**What are the most important tasks of NÉBIH at the moment?**

NÉBIH operates under the authority of the Ministry of Rural Development. While the ministry is primarily responsible for strategy development and legislation, since its establishment, the task of NÉBIH has been operative execution and professional management of the counties, it functions as an international reference laboratory and performs official analyses in the laboratories. In the Food Chain Safety Strategy adopted last year, main objectives for the next ten years were formulated, so the task of the near future is to achieve them in practice.

We manage multiple organizations, we have laboratories and perform important tasks in many locations, in almost every county of the country. Buildings were transferred to government offices, and laboratories to our center. Thanks to this, the relationship now is much more direct, and management is much easier. A more coherent, uniform system serving and supporting authority work is much needed, since now we received a huge laboratory capacity (with more than forty units), and 70 percent of our close to 1100 colleagues work in laboratories.

**What about official powers?**

First instance official powers rest with counties and districts, and in case of county matters, appellate authority belongs to us, which can be regarded as some kind of supervisory authority. The Directorate of Priority Affairs plays a key role in the fight against black and gray economies, since another organizational unit is needed that can use different methods (such as raids).

I might add that, since 2012, NÉBIH can act directly as a first instance public authority: it can levy fines directly, take action, or even has the authority to take samples directly. In a few areas it is only NÉBIH who can act as a first instance authority, for example when authorizing and inspecting non-state-operated laboratories.

**With respect to food safety, many people are aware of European Union regulations. But what happens to foods coming from third countries?**

They arrive mainly at marine ports and do not come directly to us. As for inspection, secondary analysis of foods is the task of the authority. This means that, in accordance with decree 3/2010, the Hungarian distributor has to report the goods, and the authority immediately performs a risk assessment. Foods of animal origin coming from third countries are coordinated directly by the European Union, based on their certificates. Admission of the goods is dependent on compliance with EU regulations.

**Speaking of third countries... What can you tell us about the international relations of NÉBIH?**

International relations are becoming increasingly important in the work of the office, we work closely with international organizations. I would like to point out that we work as an EFSA focal point. There is also a close relationship between the Office and the Codex Alimentarius Committee of the WHO/FAO. We would like to participate in the work of the Codex Committee in even more professional fields. It was a great honor for me that I could open the next event of the Codex Committee on Methods of Analysis and Sampling, the CCMAS Conference. Professionals of food analysis come to the conference from UN member states: analysts, state administrative officials, representatives of international organizations. Relevant topics of the international professional community on analysis, methodology and sampling were discussed by 90 delegates from ca. 70 countries over 5 days at the event organized this March. I consider it an outstanding policy advantage that this event, organized by our authority, has been hosted by Hungary for decades. We would be very happy if the Conference would be organized by Hungary in the future as well. I would like to note that our Office has become a Collaborating Center of the International Atomic Energy Agency for the third time, being the only one in the world to be awarded this title for another 4 years.

As far as specific international cooperations go, tighter coordination of sampling and analysis on an international level is of utmost importance – to mention only one example of many. With the improvement of technology, lower and lower levels of contamination can be detected, but to obtain really accurate results, sampling procedures have to be adjusted as well!

**Let's talk a little about the question of risk assessment! It means that manufacturers, distributors and restaurants would be inspected by the authority according to how law-abiding their behavior is, and to how much of a food safety risk the products they manufacture pose. Where is this matter now?**

Regular monitoring of the ca. 120 thousand food entrepreneurs operating in Hungary is a great technical challenge in itself for the organization. The European Union also requires a risk-based approach which we are trying to achieve, and bring theory into practice, by working with risk-based planning algorithms, and IT modules supporting them. Inspected enterprises providing more information about themselves and improving continuously can expect much less frequent visits from us.

I would like to emphasize that we strive to have a reciprocal, transparent and open relationship with the inspected businesses, whom we consider our partners! Companies operating honestly can expect this partnership approach in the future. However, those where serious deficiencies are found, of course, will face a much more serious treatment.

**What about the accredited status of sampling?**

According to current EU regulations, the authority does not have to be accredited in the field of sampling, but has to take samples in all cases professionally and legally. Sampling handling procedures following sampling, however, can be accredited, since quality management procedures have to be applied to professional sample handling during sampling that serves the basis for administrative measures and to laboratory analyses. This means, for example, proper labeling of the sample, transportation and storage at the appropriate temperature, and laboratory analyses initiated within the timeframe suitable for the given sample type. Particular care must



Azokban az esetekben pedig, amikor közösségi vagy hazai jogszabály rendelkezik a mintavételről, természetesen az abban foglaltaknak megfelelően járunk el.

**Az ügyfél hogyan értesülhet az ellenőrző vizsgálatok eredményeiről?**

A hatósági ellenőrzés során kapott vizsgálati eredményekről a jelenleg érvényben lévő jogszabály szerint a hatóságnak nem kell az ügyfelet tájékoztatnia. Ez azt jelenti, hogy az élelmiszerek előállítását és forgalmazását terhelő önellenőrzési kötelezettség alól a hatósági ellenőrzés nem mentesít. A törvény szerint az előírásoknak megfelelő eredményről a hatóságnak az ügyfelet nem kell tájékoztatnia. Abban az esetben, ha az ellenőrzés során olyan mérési eredményeket kapunk, amelyek az adott minta nem-megfelelőségét jelentik, akkor az érintett ügyféllel szemben eljárást kell indítanunk. A hatósági eljárás során ilyen esetben természetesen a releváns mérési eredményeket az ügyfelek tudomására hozzuk.



partnerként is gondolnának ránk. Nem elég, ha csak mi tudjuk, meg is kell mutatnunk, milyen hasznosak vagyunk a társadalom számára. Ennek érdekében a sajtóra és a fiatalokra összpontosítunk elsősorban.

Fontosnak tartjuk a lakossággal való kommunikációt, azt, hogy az üzeneteinket minél hatékonyabban tudjuk eljuttatni az embereknek, hogy ők a NÉBIH kapcsán magára az élelmiszerbiztonság ügyére is gondoljanak. Ennek érdekében a hatósági oldal tudományos eredményeit megosztjuk a lakossággal, mégpedig egy tudásbázis kialakítása során. Szeretnénk közzé tenni az élelmiszerek fogyasztóinak szemszögéből fontos ismereteket, és a lakossággal kellő alapossággal szeretnénk megismertetni az élelmiszerbiztonsági kockázatokat.

Talán kevesen tudják, de érdekes adat, hogy a betegségek 70-80 százaléka a háztartásokban elkészített és elfogyasztott élelmiszerekből származik, ezért is fontos, hogy ismeretterjesztő üzeneteink el-



**Az utóbbi időben a NÉBIH számos lépést tett a nyilvánosság felé. Több alkalommal is megnyitotta a laboratórium kapuit, kampányszerűen népszerűsítette az élelmiszerbiztonság ügyét az iskolás korosztályok körében. Mi ezzel a céljuk?**

Szeretnénk kitörni a hatóság misztériumából! Szeretnénk, ha ügyfeleink nem kizárólag ellenőrző és büntető hatóságként, hanem a szakterületet kitűnően ismerő, kimagasló szakismeretekkel rendelkező

jussanak a lakossághoz. Ezért egy olyan internetes felület létrehozásán dolgozunk, amelynek lényege az önellenőrzés, az adatszolgáltatás, sok hasznos tudnivaló átadása (például a fogyasztói kosár esetén), és hamarosan felkerülnek a honlapra az éves ellenőrzési adatok is. Itt jegyzem meg, hogy az idén 60 esztendő **Élelmiszervizsgálati Közlemények** c. szakfolyóirat szerkesztőségével abban állapodtunk meg, hogy a folyóiratban részletesen közölni fogjuk ellenőrzéseink eredményeit.



**Konyhasziget** elnevezésű ingyenes kiadványunkkal ugyancsak az élelmiszerbiztonság ügyét kívánjuk népszerűsíteni – egyelőre a nagy áruházláncokban –, a fűzet hátsó borítójára jó nagy betűkkel írtuk rá zöld számunkat, hogy a kiadvány érdeklődő olvasói minél könnyebben felvehessék a kapcsolatot munkatársainkkal.

Tavaly **Légy te is láncszem**, az idén pedig **Tuti biztos** elnevezéssel internetes kvízzjátékot szerveztünk iskolásoknak. Ezek nagyon sikeresek voltak, a Tuti biztos kvízzjátékban például 300 iskola és közel 1000 diák vett részt. A felnövekvő korosztály nevelése élelmiszerbiztonsági szempontból is nagyon fontos, hiszen nem csak élelmiszer-fogyasztó, hanem élelmiszervállalkozó, és akár még laboratóriumi szakember is válhat belőlük, ezért tavaly első ízben vettünk részt a Kutatók Éjszakája rendezvényen.

Kiemelt hangsúlyt fektetünk a gondolkodásra, a gondolkodtatásra. Erre a célra külön társasjátékot és kártyát is készítettünk. Tapasztalataink szerint a gyerekek nagyon nyitottak, és sokan akár tantárgyi keretek között is szívesen tanulnak az élelmiszerbiztonságról. A gyerekek 60 százaléka egyébként aktívan részt vesz a bevásárlásban, és nagy hatással van a szüleire, úgyhogy még ebből a szempontból is fontos a nevelésük.

**A széles közvélemény tájékoztatása mellett milyen viszonyra törekednek a tudományos élet szereplőivel?**

A tudományos élet felé ugyancsak nyitottabbnak kell lennünk. Szeretnénk támogatni az egyetemeken az élelmiszerbiztonság ügye szempontjából is fontos fakultásokon folyó oktatást, kutatást, és nem csak anyagilag, hanem a szakértelmünkkel is – a közeljövőben minél több munkaórát igyekszünk erre a célra szánni.

## „Kiemelt hangsúlyt fektetünk a gondolkodásra, a gondolkodtatásra”

Ugyancsak a tudományos életben való aktív részvétel kapcsán támogatjuk a tiszteletre méltó hagyományokkal rendelkező folyóiratot, az **Élelmiszervizsgálati Közleményeket (ÉVIK)** is. Véleményem szerint a szakfolyóirat fennmaradása és színvonalas cikkekkel való ellátása azért is fontos, mert a NÉBIH-nek nem csak az élelmiszeripari vállalkozások, hanem a laboratóriumok felett is ellenőrzési jogköre van, márpedig a lap olvasóinak jelentős része e két területen tevékenykedik. A szaklap által biztosított felületen az eddig megszokotthoz képest szorosabb és szakmailag értékesebb kapcsolatot tarthatunk fenn ügyfeleinkkel, akik egyben a szakfolyóirat olvasói is lesznek. A már említett vállalkozói réteg mellett az élelmiszervizsgálatokban érdekelt

be taken when taking samples for the purpose of microbiological analyses. We must ensure that the time elapsed between sampling and the start of laboratory analyses is short enough that the microbiological state of the food samples only changes to an extent that does not endanger the correctness of the judgement made about the sample.

In case of samples taken for the purpose of physical, chemical and organoleptic analyses, the owner of the lot sampled is entitled to request a counter-sample from the expert acting on the scene in order to have a sample at his disposal for settling any possible disputes, that was sealed jointly without loss during sampling, and was stored under conditions appropriate for the nature of the sample. In case of samplings performed for certain assessment analyses, taking of counter-samples is not necessary, if the analyses are not followed by administrative measures. For microbiological analyses, due to the laws of nature, comparison of the results of a possible counter-sample and the results of the original sampling is not applicable, unfortunately.

In cases where Community or national legislation exists on the sampling, naturally, we proceed in accordance with it.

**How are customers notified about the results of inspections?**

Authorities are not obligated to notify customers about test results obtained during official inspections, according to current legislation. This means that authority inspections do not release manufacturers and distributors of food from the obligation to perform self-monitoring. By law, the customer does not have to be informed by authorities about results satisfying regulations. If measurement results signifying non-compliance of the sample are obtained during the inspection, we have to take action against the customer involved. During administrative proceedings, relevant test results are communicated to the customers, of course.

**Recently, NÉBIH has taken several steps towards the public. On several occasions, doors of the laboratory were opened, and a campaign was launched to popularize the issue of food safety among schoolchildren. What is your purpose?**

We would like to break out of the mystery of authority! We would like our customers to think of us not only as a control and criminal authority, but also as a partner with excellent knowledge of the professional field having outstanding experts. It is not enough for us to now how useful we are to society, we have to show it, too. To this end, we focus mainly on the media and young people.

We consider it very important to communicate with the public, to convey our messages to people efficiently, so when they think of NÉBIH, they also think about the matter of food safety. To achieve this, scientific results of the authority are shared with the public, namely during the development of a knowledge base. We would like to publish information important for consumers of foods, and make people aware, to the extent necessary, of food safety risks.

Perhaps few people know about this, but it is an interesting bit of information that 70 to 80 percent of illnesses are the results of foods prepared and consumed in households, that's why it is so important for our educational messages to reach the public.

# „Fontosnak tartjuk a lakossággal való kommunikációt, azt, hogy az üzeneteinket minél hatékonyabban tudjuk eljuttatni az embereknek”

laboratóriumi szektornak is lényeges, hogy megismerje a hatósági laboratóriumokban zajló munkát, az ott született eredményeket.

Mivel az Élelmiszervizsgálati Közlemények a hazai élelmiszeripar, élelmiszervizsgálat és élelmiszerbiztonság egyik legfontosabb tudományos fóruma, rendkívül fontosnak tartjuk, hogy a kollégáink mind a cikkek írásában, mind pedig a lap nemzetközi szintén történő terjesztésében is szerepet vállaljanak. Ezzel saját munkatársainknak is biztosítjuk, hogy munkájuk, kutatásaik eredményeivel ebben a nívós, magyar-angol nyelvű periodikában a világ tudományos színpadára is kijuthassanak a folyóirat kétnyelvű internetes változata révén. Ilyen módon a NÉBIH tevékenységének eredményeit a világ bármely országában naprakészen megismerhetik az érdeklődők.

**Az imént Ön által említett vizsgálólaboratóriumokkal (mint amilyen például az e lapot is kiadó WESSLING Hungary Kft) milyen a NÉBIH kapcsolata?**

Az élelmiszerek vizsgálatával foglalkozó laboratóriumok engedélyezési rendjét a törvény szabályozza. Az érintett vizsgálólaboratóriumok kötelesek bejelenteni a tevékenységüket, és adott esetben megvárni a működési engedélyt, amelyet hatóságunk ad ki. Szeretném hangsúlyozni, hogy a hatósági mellett a magánlabor-hálózat is rendkívül értékes és az összképet meghatározó információval rendelkezik, amelyre a közös tudásbázis kiépítésekor nagyon számítunk. Ennek szellemében Magyarország élelmiszerbiztonsági stratégiai terveinek megvalósításakor szeretnénk nekik is helyet, teret adni. Elmondhatom, hogy a kölcsönös kompromisszumok mentén a magyar lakosság és a vállalkozások szempontjainak figyelembevétele alapvetően határozza meg a laborokkal való együttműködésünket is!

## Dr. Oravecz Márton Egy életút főbb állomásai

Állatorvosként végzett 1998-ban, majd hatósági területen, a Békés megyei Állategészségügyi és Élelmiszer-ellenőrző Állomáson helyezkedett el, különös figyelmet szentelve a járványügy és az élelmiszervizsgálatok területére. Laboratóriumi gyakorlatát az Országos Élelmiszervizsgáló Intézetben (OÉVI), a NÉBIH elődjében szerezte, és akkor még legmerészebb álmában sem gondolta volna, hogy tíz év múlva ő lesz e szervezet jogutódjainak az elnöke.

Persze volt még néhány állomás az ide vezető úton: 2002-ben az országban első állatorvosként lett élelmiszer-biztonsági szakmérnök a Budapesti Corvinus Egyetemen. Posztgraduális képzés keretében pedig állat-egészségügyi szakállatorvosi diplomát is szerzett. 2004-ben megyei főmérnökként vezette a Békés megye területén működő élelmiszer-előállító üzemek és élelmiszer-forgalmazó vállalkozások ellenőrzését. Egy évre rá megyei főállatorvos, 2007-ben a Mezőgazdasági Szakigazgatási Hivatal (MgSzH) Élelmiszer- és Takarmányügyi Igazgatóságának igazgatóhelyettese, majd igazgatója, 2010-ben az MgSzH elnökhelyettese, majd elnöke lett. 2012-től tölti be a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal (NÉBIH) elnöki tisztét.





Therefore, we are working to create an internet platform focusing on self-monitoring, providing data, and sharing a lot of useful information (about the market basket, for example), and results of annual inspections will be posted soon as well. I'd like to note here that we agreed with the editorial board of the **Journal of Food Investigations**, celebrating its 60th birthday this year, that our inspection results will be published in the magazine in detail.

The purpose of our free publication called **Kitchen island** is also the promotion of the issue of food safety – for the time being, in large supermarket chains –, and our toll free number is printed on the back cover in large numbers, to make it easy for interested readers of the publication to contact our colleagues.

Online quizzes were organized for students, titled **Be a link** last year, and **Absolutely sure** this year. They were very successful, for example, 300 schools and almost 1000 students participated in **Absolutely sure**. Education of the generation growing up is very important from a food safety aspect, because they can become not only food consumers, but also food entrepreneurs, or even laboratory experts, that's why we participated in the event titled Researchers' Night for the first time last year.

We place special emphasis on thinking and on making people think. For this purpose, a special board game and cards were prepared. In our experience, children are very open, and willing to learn about food safety even within the framework of school subjects. Incidentally, 60 percent of children actively participate in shopping, and influence their parents greatly, so their education is important in this respect as well.

**In addition to informing the general public, what kind of relationship do you endeavor to have with the scientific community?**

We need to be more open towards science as well. We would like to support education and research performed at university faculties relevant from a food safety aspect, and not only financially, but also with our expertise – we try to expend more manhours on this project in the near future.

Also related to our active participation in scientific life, we support the **Journal of Food Investigations (ÉVIK)**, a magazine with venerable traditions. In my opinion, survival of the journal and supplying it with high quality articles is important, because NÉBIH has a control authority not only over food businesses, but also over laboratories, and a significant part of the readers of the publication operate in these two areas. Via the interface provided by the journal, a closer and professionally more valuable contact than before can be maintained with our customers, who will also be readers of the journal. In addition to the entrepreneurs already mentioned, it is also important for the laboratory sector involved in food analysis to get to know the work performed in authority laboratories, and the results produced there.

Since the Journal of Food Investigations is is one of

the most important scientific forums of domestic food industry, food analysis and food safety, we consider it extremely important for our colleagues to participate in the writing of articles, as well as in helping the circulation of the journal in the international arena. It also ensures that the results of the work and the research of our colleagues can reach the international scientific stage in this high quality Hungarian-English periodical through the bilingual online version of the journal. This way, up-to-date results of the activities of NÉBIH will be available to interested parties all over the world.

**What kind of relationships does NÉBIH have with the above-mentioned testing laboratories (such as the publisher of this journal, WESSLING Hungary Kft.)?**

Licensing rules of food testing laboratories are regulated by law. Testing laboratories concerned are required to register their activities and, where appropriate, wait for the operating license issued by our authority. I want to emphasize that, in addition to authority laboratories, the private laboratory sector is very important as well and has information defining the overall picture that we count on very much when establishing the common knowledge base. In this spirit, when implementing the strategic plans of Hungary for food safety, we would like to provide them with a place and space. I can tell you that, alongside mutual compromises, taking into consideration the interests of the Hungarian population and businesses will fundamentally define our good cooperation with the laboratories!

## Dr. Márton Oravec Main stages of a life

Graduated as a veterinarian in 1998, then worked in the authority area, at the Animal Health and Food Control Station of Békés county, with special attention to epidemiology and food analysis. Gained laboratory practice at the National Food Investigating Institute (OÉVI), predecessor of NÉBIH, and never in his wildest dreams did he think that ten years later he was going to be the president of this organization's successor. Of course, there were some other stops along the way: in 2002 he became the first veterinarian to receive a food safety engineer's degree from Corvinus University of Budapest. Through graduate training, he also obtained an animal health veterinarian diploma. In 2004, he led the inspection of food producing plants and food distributing businesses operating in Békés county as a senior county engineer. A year later he became county chief veterinarian, in 2007 deputy director and then director of the Directorate for Food and Feedstuffs Safety of the Central Agricultural Office (MgSzH), in 2010 deputy president then president of MgSzH. Since 2012, he has been president of the National Food Chain Safety Office (NÉBIH).



# Kutatás – fejlesztés – innováció

## Stratégiai szemlélet és partnerség a kutatásban



A tudásalapú társadalom elveinek meghonosítása a tudományos életben egy aktív élelmiszerlánc kutatási hálózattal.

Az emberiség évezredekken keresztül tapasztalati úton ismerte meg, és kezelte az élelmiszer-biztonságot. Az élelmiszerek termelése és fogyasztása alapvetően lokálisan szervezett volt, a nemzetközi kereskedelemben mindössze néhány árucikk vett részt. A harmadik évezred kezdetére azonban a nemzetközi élelmiszerforgalom növekedése, az új technológiák és új kórokozók megjelenése, valamint az élelmiszerfogyasztás szociológiai tényezőinek gyors változása olyan kihívások elé állította az emberiséget, amelyek hatékony megoldását csak a tudomány eszközeinek következetes alkalmazásától várhatjuk. Mindezek érdekében kiemelt fontosságú a hatékony ellenőrzési rendszer kialakítása az ismert és még ismeretlen veszélyek kiszűrésére, mely feladatban kulcsfontosságú a laboratóriumok szerepvállalása is.

Az élelmiszerlánc-biztonság szabályozásában a **Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal** a kockázatelemzés nemzetközileg elfogadott módszertanát tartja alkalmasnak, és követi a jövőben is. A kockázatelemzés egymással összefüggő alrendszerének – vagyis a kockázatbecslés, a kockázatkezelés és a kockázatkommunikáció – működését illetően érvényesülnie kell a szakmai függetlenségnek, azonban e területek szorosan integrált együttműködésére van szükség a reakciókészség, a megalapozott döntéshozás és a prevenció hatékonyságának érdekében. Az élelmiszerlánc-felügyeleti intézkedések megalapozásához a szervezetben belüli erőforrásokon túlmenően igénybe kell venni a szakterületen elismert tevékenységet folytató tudományos szervezetek szakértelmét is, partnerséget kialakítva mind a kutatás, mind az innováció területén.

## Research – development – innovation

### Strategic approach and partnership in research

Introduction of principles of knowledge-based society through an active and scientific food chain research network.

Humanity had empirically discovered and handled food safety through thousands of years. Food production and consumption was mainly locally organised, only some products were involved in international trade. By the beginning of the 3rd millennium, growth of the international food trade, occurrence of new technologies and new pathogens, furthermore rapid changes in the sociological factors of food consumption created new challenges to humanity, accordingly an effective solution can only be achieved by the use of consistent tools of science. In the interest of these goals the establishment of an effective control system is exceptionally important for the screening of known and unknown hazards, in which also laboratories play a key role.

At the National Food Chain Safety Office the internationally accepted methodology of risk assessment is recognized as appropriate in the regulation of food chain safety and it will be applied also in the future. Concerning the operation of the sub-systems associated with risk analysis – risk assessment, risk management and risk communication – professional independence has to be vindicated. However closely integrated co-operation of the mentioned fields is required for the sake of reactivity, well supported decision making and effectiveness of prevention. Beyond the resources of the organization, in the case of the foundation of control activities in the food chain, expertise of recognized scientific associations has to be resorted creating partnership both in the field of research and innovation.



# Az Élelmiszerlánc-biztonsági Stratégia (ELBS) 6. programja: Partnerség a kutatásban, innovációban



Az élelmiszerlánc-biztonsággal összefüggő kérdések újabb és újabb tudományos problémákat vetnek fel, amelyek megválaszolása elengedhetetlen a magyar élelmiszerek fogyasztóinak hosszú távú biztonsága és az élelmiszerágazat versenyképessége szempontjából.

A 21. század legnagyobb globális kihívásai fokozódó mértékben és sok esetben hátrányosan, más esetekben pedig kiszámíthatatlan módon hatnak az élelmiszer-gazdaságra, valamint az élelmiszerlánc-biztonságra is. A globális környezeti és éghajlati változások például új kórokozók, új (például allergizáló hatású) polleneket termelő gyomnövények és mikotoxinokat termelő penészgombák elterjedéséhez vezetnek. Új technológiák jelennek meg (például a modern biotechnológiai módszerek, nanotechnológia, klónozás), amelyek révén új élelmiszerek és új diagnosztikai módszerek keletkeznek. Ezek az eszközök sok szempontból ígéretesnek tűnnek, ugyanakkor új élelmiszerlánc-biztonsági kihívásokat is jelentenek. A kockázatok között ugyanakkor megtalálhatjuk azokat is, amelyekről több emberöltőnyi ismerettel rendelkezünk, ugyanakkor mégis minden évben megbetegedések sokaságát okozzák.

Az élelmiszerlánc-kutatás, -fejlesztés és -innováció területén partnerségi viszony kialakítására van szükség az érintett felek között, és ennek koordinálását, segítségét – az erőforrásokhoz, az információkhoz és a szakemberekhez való hozzáférés miatt – a **Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatalnak** kell biztosítania.

## Tervezett intézkedések a Stratégia keretein belül:

- Felkészülés a K+F+I-re (inkubációs időszak biztosítása; fiatal kutatók hálózata)
- Az ágazat szempontjából hasznos alap- és alkalmazott kutatásokba való bekapcsolódás (nemzetközi és hazai kutatások; konferenciákon való részvétel; ipar és állam közös kutatás-fejlesztése)
- Gyakorlatban felhasználható alap- és alkalmazott kutatások ösztönzése (vásárlói preferenciák; termék- és technológiafejlesztés)
- Központi és regionális tudásközpontok, technológia transzfer hálózat kialakítása (termelő, feldolgozó és kutatóhelyek együttműködése új termékek, eljárások fejlesztése területén)

Az Élelmiszerlánc-biztonsági Stratégia honlapja:

[www.elbs.hu](http://www.elbs.hu)

## 6th program of the Food Chain Safety Strategy: Partnership in research and innovation

The questions related to the food chain safety raise more and more scientific problems, which should be in any case answered in order to ensure the long-term safety of the consumers of Hungarian foodstuffs and the competitiveness of the food industry.

The greatest global challenges of the 21st century may have intensive, in some cases adverse, in other cases unpredictable effects on the food economy and also on food chain safety. The global environmental and climatic changes lead to the spread of new pathogens, for example, new pollen-producing weeds with allergenic effects and molds producing mycotoxins. New technologies are developed (for example the methods of modern biotechnology, nanotechnology, cloning) in which new foods and new methods of diagnosis are evolving. These tools appear to be promising in many ways; however, they represent new challenges in the food chain safety. Among the risks we can find those as well that are known for several generations, however yet causing a multitude of diseases each year.

In the field of food chain research, development and innovation there is a need to build up a partnership between stakeholders, and the coordination and facilitation of this – due to the required access to resources, information and professionals – should be ensured by the National Food Chain Safety Office.

### Planned strategic actions:

- Preparing for the R&D&I (providing incubation period; network of young researchers)
- Involvement in basic and applied research useful from the industry's perspective (international and domestic research; participation in conferences; joint research and development of industry and government)
- Promoting of basic and applied research useable in practice (consumer preferences; product and technology development)
- Central and regional knowledge centres, development of technology transfer network (co-operation of primary production, processing and research facilities in the development of new products and procedures)

Az élelmiszerbiztonság ingyenes hívószáma:



80/a nébih  
80/2 63244







Ambrus Árpád<sup>1</sup>, Farkas Zsuzsa<sup>1</sup>, Horváth Zsuzsanna<sup>1</sup>, Kötelesné Suszter Gabriella<sup>2</sup>

Érkezett/Received: 2014. március/March – Elfogadva/Accepted: 2014. április/April

# Az élelmiszerek növényvédőszer-maradék tartalma ellenőrzésének elvi alapjai és gyakorlati megvalósítása

## Összefoglalás

A közlemény összefoglalja a növényvédőszer-maradék eloszlásával kapcsolatos ismereteket az egyedi terményekben illetve a szabványokban rögzített mintavételi eljárással vett összetett mintákban. Az elemzéshez rendelkezésre álló több mint 19000 egyedi terményben, 144 üzemi kezelést követő mintában, 1900 növényvédőszer növény kombinációban végzett szerkísérletekből származó egyedi mintákban, valamint a kísérleti területekről vett >1200 duplikált mintapárban mért szermaradék értékeket nagyszámú számítógépes modellkísérlettel kiegészítve 19 termékcsoporthoz meghatároztuk a mintavétel tipikus hibáját. A potenciálisan több termőterületről származó árúk ellenőrzésénél a tipikus mintavételi bizonytalanságnál 1.4 szer magasabb értékkel célszerű számolni.

A forgalmazás előtti termék-megfelelőség ellenőrzésénél a mérési eredmény értékelésekor mintavétel és a laboratóriumi mérés reprodukálhatóságát magában foglaló kombinált bizonytalanságot kell figyelembe venni.

A növényi termények növényvédőszer-maradék tartalmának forgalmazás előtti ellenőrzésénél javasoljuk az engedélyezett növényvédőszer-maradék határértéknél alacsonyabb cselekvési szint megállapítását. Gyakorlati példákkal illusztráljuk a számítását megkönnyítő Excel makró alkalmazását és a kapott eredményeket.

## 1. Bevezetés

A növényvédőszer eloszlását, a kezelt terményen maradó szermaradék koncentrációját, számos tényező befolyásolja, melyeket a kezelést végző személyek ideális esetben is csak részben tudnak szabályozni. A szermaradék eloszlást befolyásoló tényezőket a rendelkezésre álló szakirodalmi eredmények alapján Horváth és munkatársai részletesen összefoglalták [1]. Közleményünkben csak a gyakorlati végrehajtás során jelentkező néhány példával illusztráljuk az egyes termésekben vagy mikro-körzetekben jelentősen eltérő szermaradék koncentrációt okozó tipikus tényezőket.

Az 1. ábra egy három éves papaya ültetvény növényvédőszeres kezelését mutatja. A folyamatosan érő gyümölcsök 4-4,5 méter magasságban helyezkednek el (5-6 éves ültetvényben a fák 6-8 méter magasak). Egyenletes borítottság még korszerű háti-géppel, vagy traktor vontatva permetezőgéppel sem érhető el. A kezelés során a még elfogadható erősségű oldal-szél is a permetlé eloszlás torzulását eredményezheti



1. ábra. 3-éves papaya ültetvény növényvédőszeres kezelése. A bal oldali kép a gyümölcsök elhelyezkedését mutatja. A jobb oldali képen a permetezőmester az előtte lévő sort kezeli. A permetlé jelentős hányada az ültetvényben szóródik szét.

Figure 1. Pesticide treatment of a three-year-old papaya plantation. The picture on the left shows the location of the fruits. In the picture on the right, the spraying expert is treating the row in front of him. A significant fraction of the spray is dispersed over the plantation.

<sup>1</sup> Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal Élelmiszerbiztonsági Kockázatértékelési Igazgatóság

<sup>1</sup> National Food Chain Safety Office, Directorate for Food Safety Risk Assessment

<sup>2</sup> Wessling Hungary Kft.

(2. ábra). A szántóföldi növények kezelésénél a talaj egyenetlensége a szóró keret billegése következtében okoz eltérő permetlé borítottságot. A repülőgé-

pes permetezésnél a gép emelkedése vagy süllyedése okozhat számottevő koncentráció különbségeket.



2. ábra. Az oldalszél hatására a permetcseppek profilja torzul (Forrás: Ganzelmeir)

Figure 2. Crosswind causes spraying profile distortion (Source: Ganzelmeir)

(3. ábra). Az eltérő növényállomány magasság, a legkorszerűbb fotocellás vezérlésű gépek kivételével,

még ideális esetben is befolyásolhatja a növényzet szermaradék expozícióját.



3. ábra. A tábla végén a szermaradék-koncentráció a permetező repülőgép felemelkedése következtében megnő. Ha a gépet a pilóta korábban emeli fel, akkor a tábla végére nem jut permetlé. (Forrás: Ganzelmeir)

Figure 3. Pesticide residue concentration is higher at the end of the lot, due to the climbing of the spraying plane. If the plane starts to climb too early, the spray will not reach the end of the lot. (Source: Ganzelmeir)



# Principles and practices of control of pesticide residues in food

Árpád Ambrus<sup>1</sup>, Zsuzsa Farkas<sup>1</sup>, Zsuzsanna Horváth<sup>1</sup>, Gabriella Suszter<sup>2</sup>

## Summary

This paper reviews the information available on the characteristics of the distribution of pesticide residues in primary and composite samples of sizes specified by relevant standards. Residue data measured in >19000 crop units, 144 composite samples taken from commercially treated crops, supervised trials samples taken from 1900 crop-pesticide combinations, >1200 duplicate samples taken from supervised trials were evaluated and complemented with numerous computer modelling for the determination of typical sampling uncertainties for 19 commodity groups. In case of potentially mixed lots, it is appropriate to multiply the typical sampling uncertainties with a factor of 1.4.

For the pre-marketing testing of compliance, the expanded combined uncertainty including the uncertainty of sampling and the reproducibility of analyses should be taken into account.

It is recommended to establish an action limit, which is lower than the authorised maximum residue limit, for pre-marketing testing of pesticide residue concentrations in plant commodities. The application of an Excel macro facilitating the calculation is illustrated with practical examples.

## 1. Introduction

Distribution of pesticides and residue concentrations remaining on the crops are influenced by several factors that can only be regulated partially by the persons performing the treatment, even under ideal conditions. Factors influencing residue distribution were summarized in detail by Horváth et al., based on available literature data [1]. In our publication, typical factors resulting in significantly different residue concentrations in certain crops or microregions during practical implementation are illustrated with a few examples.

Pesticide treatment of a three-year-old papaya plantation is shown in **Figure 1**. Continuously ripening fruits are located at a height of 4 to 4.5 meters (trees on a plantation that is 5 to 6 years old are generally 6 to 8 meters tall). It is impossible to achieve uniform coverage even using a modern backpack sprayer or a trailer sprayer. During treatment, even acceptable crosswind speed can result in the distortion of the spray distribution (**Figure 2**). When treating field crops, ground unevenness results in different spray coverage, due to the wagging of the spray manifold. In case of aerial spraying, climbing or descent of the plane can result in significant concentration differences (**Figure 3**). Different plant heights can influence pesticide residue exposition even under ideal conditions, with the exception of state-of-the-art, photocell-controlled planes (**Figure 4**). Even hundredfold differences in the pesticide residue content of individual fruits can be caused by these factors [2]. Pesticide residues of apples that are in different positions on the tree are shown in **Figure 5**. It is clearly visible, that pesticide residue coverage is lowest for fruits in an inner middle (IM) position, while highest for ones in an outer middle (OM) position. Pesticide residue distribution on Savoy cabbage, in the concentration range of 1 to 25 mg/kg, is shown in **Figure 6**.

Due to the wide range of pesticide residue concentrations in different crops, laboratory analysis of samples taken according to standard sampling procedures [4,5] and containing 5 to 10 sample specimens shows a significant variability which can be characterized by the standard

deviation of the average pesticide residue concentration of samples taken repeatedly from the same lot, indicating not the sampling errors, but the unavoidable uncertainty of sampling.

In our current publication, parameters characterizing the distribution of pesticide residues within the area treated are summarized. Taking into consideration the results of the research performed in order to determine the sampling uncertainty of different crops, recommendations are formulated for the practical realization of pesticide residue control of plant products to be distributed in such a way that the probability of the following statement can be given: the lot sampled satisfies legal pesticide residue limits.

## 2. Factors influencing the random error and the uncertainty of the analyses

### 2.1. Pesticide residue distribution in the treated area

Characteristic properties of the pesticide residue distribution in the treated area were analyzed in detail by Horváth et al. [1], based on literature data and their own, targeted experiments, in nearly 19 000 fruit and vegetable samples representing 20 different plants and 46 pesticides, or in primary samples of small fruits (e.g. cherries) taken from a limited area. Findings relevant for the present work were the following:

- For the characterization of pesticide residue distribution, the most suitable parameter is the relative standard deviation (coefficient of variation, CV), which makes it possible to compare the standard deviation of samples taken from lots having different average pesticide residue contents.
- Frequency distribution of the pesticide residue contents of 100 to 120 primary samples taken from treated lots can be best described using log-normal, Weibull or gamma functions, but for the 19 normalized data series analyzed, the best overall fit was obtained using the log-normal distribution. On average, distribution of the pesticide residue content of individual crops could be characterized by a CV value of 0.8, except for vegetables evenly distributed over the growing area (e.g. parsley leaves, carrots, cabbage), where the estimated CV value was 0.6.
- Pesticide residue content of primary samples shows a skewed distribution, strongly elongated towards high concentrations. If pesticide residue values equal to, or close to the limit of quantification (LOQ) are observed in 5 to 10% of the samples, then the CV value of the samples will be larger than that of lots containing the same residue in measurable amounts.
- Despite a pesticide residue distribution that is elongated in the higher concentration range and is not continuous, the equation for central distribution,

$$CV_n = \frac{CV_1}{\sqrt{n}} \quad (1)$$

is still applicable for the calculation of the expected  $CV_n$  value of composite samples of different element numbers (n) from the  $CV_1$  value of the population.

- The results of the 100 to 120 primary samples taken from the same lot provides only one estimate for the actual distribution of pesticide residues. Expected effect of repeat sampling was modelled by taking 5 to 300 primary samples from a population of 500000 with  $\mu=1$  and  $CV=0.8$ , using random sampling with replacement. Based on the model analyses it was determined that CV values of samples taken from a population of unchanged composition vary widely (for samples containing 120 values, in the range of 0.525 to 1.83), and only the average of more than 300 primary



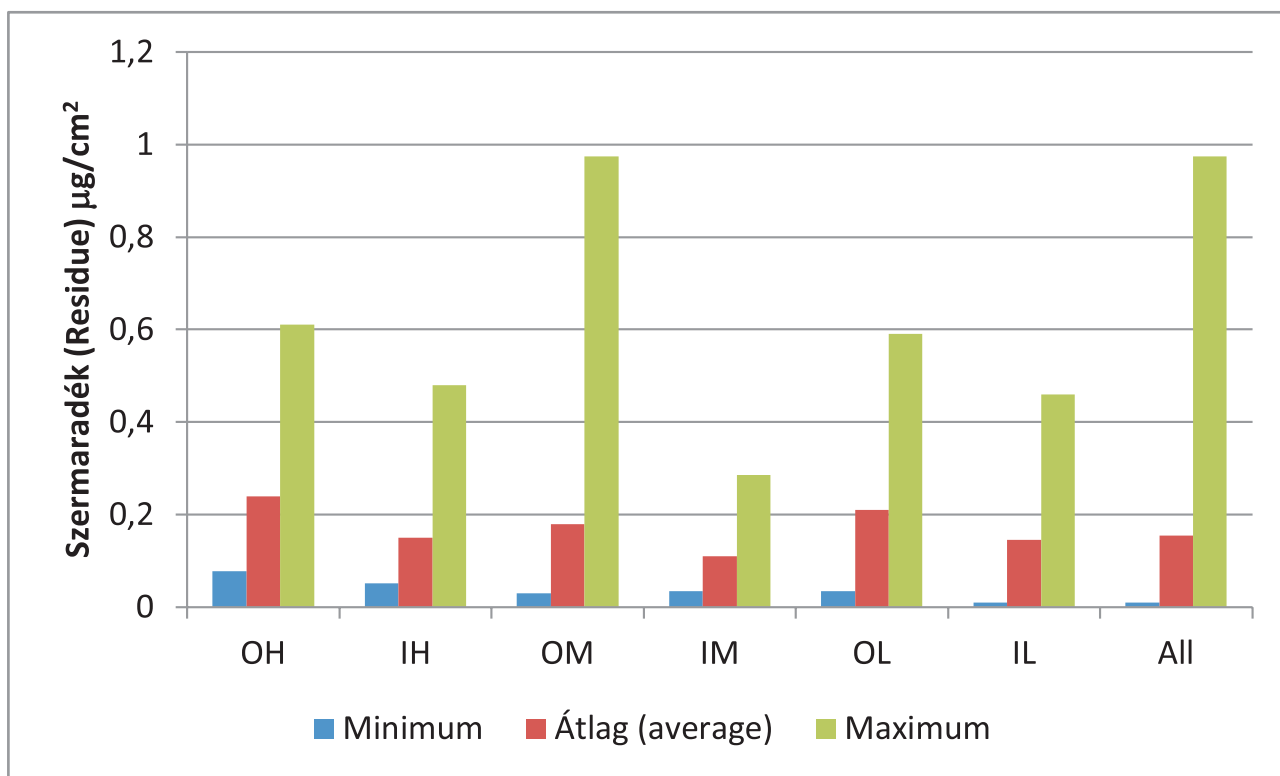
4. ábra. Gépi és kézi permetezés ideális körülmények között

Figure 4. Manual and tractor mounted spraying under ideal conditions

(4. ábra). Ezen tényezők esetenként közel százszoros különbséget okozhatnak az egyes termések szermaradék tartalmában [2].

Az 5. ábra az almafán különböző pozícióban levő

gyümölcsök szermaradék koncentrációját mutatja. Jól látható, hogy a legalacsonyabb a szermaradék borítottság a középső belső (IM) helyzetű és a legmagasabb a középső külső (OM) helyzetű gyümölcsökön található.



5. ábra. Klórpírifosz (chlorpyrifos) felületi szermaradék koncentráció eloszlás almafán különböző pozícióban lévő alma gyümölcsökön (OH: külső magas, outer high; IH: belső magas (inner high); OM: külső középső (outer middle); IM: belső középső (inner middle); OL: külső alsó (outer low); IL: belső alsó (inner low) All: összes.

Figure 5. Pesticide (chlorpyrifos) residue concentration surface distribution on apples in different position on an apple tree (OH: outer high; IH: inner high; OM: outer middle; IM: inner middle; OL: outer low; IL: inner low).



samples approaches the CV value of the population to within 1 to 2%. When taking too few samples, the CV value of the population is underestimated.

## 2.2. Determination of the standard deviation (uncertainty) of results obtained from random sampling

Standard deviation of the analytical results (R) from the expected value is influenced by several factors. The main components are the random errors of sampling (S), sample size reduction (SS), sample homogenization (Sp) and analysis (A). If one assumes that the concentration of the pesticide residue does not change during the process, then the relative standard deviation of the result, according to the general law of error propagation, can be described as follows:

$$CV_R = \sqrt{(CV_S^2 + CV_{SS}^2 + CV_{Sp}^2 + CV_A^2)} \quad (2)$$

Since sampling and laboratory analysis are usually separated from each other in both time and space, it is practical to break down the overall uncertainty of the result into sampling and laboratory analysis.

$$CV_R = \sqrt{(CV_S^2 + CV_L^2)} \quad (3)$$

$$CV_L = \sqrt{(CV_{SS}^2 + CV_{Sp}^2 + CV_A^2)} \quad (4)$$

Depending on the process, each major component can be divided into subcomponents. For example, a large sample is first reduced by diagonal division, then it is thoroughly mixed in a suitable mixer, and a test portion to be sent to the laboratory is taken from the mixed sample. Similarly, the analytical process can also be divided into components (extraction, clean-up, derivatization, quantitative/qualitative chromatographic analysis). Division of the analysis ( $CV_A$ ) into subprocesses is generally only necessary if the combined relative uncertainty of the analytical measurement is higher than the acceptable level. In this case, it is useful to analyze subprocesses separately [5] in order to determine the main source of the standard deviation, and to reduce it, if possible [6].

The  $CV_L$  value characteristic of the reproducibility of laboratory procedures can easily be determined and sometimes checked using repeat analysis as prescribed in Section 5.9.1 of standard ISO 17025 [7]. This repeat analysis can be performed 2 to 4 weeks after the first analysis, on a sample selected by the quality manager, as an unknown sample, from samples obtained after homogenization of subsamples prepared during size reduction and stored in a freezer. In this case, information about reproducibility calculated according to equation 4 is obtained. If analytical samples are taken from the homogenized laboratory sample, then the calculated relative uncertainty only provides information about the overall result of homogenization and the analytical measurement

$$CV'_L = \sqrt{(CV_{Sp}^2 + CV_A^2)} \quad (5)$$

Relative standard deviation of the reproducibility of the analytical measurement can be estimated by two methods. In the first period, in case of 3 to 10 repeat analyses, application of equation 5 is recommended.

$$CV_L = \left(\frac{\sum \Delta}{n}\right) / 1.128 \quad (6)$$

In case of a larger number of repeat analyses, the value of

$CV_L$  can be calculated according to equation 6 [5]:

$$CV_L = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \Delta_i}{2n}} \quad (7)$$

where  $\Delta = \frac{R_1 - R_2}{R}$ , and n is the number of repeat analyses.

For repeat analyses performed at three different times, equation 5 should be applied using a divisor of 1.694 [8]. Both equations provide only an estimates for the relative uncertainty, so the calculated results can be slightly different. Equation 6 can only be applied if one can assume that analytical results are only influenced by random errors. Therefore, it is advisable to examine the correlation between the first analysis and subsequent ones. For example, if results obtained on the second or later occasions are significantly lower than the ones obtained on the first occasion, then it is very likely that the pesticide residue analyzed decomposes during storage. If results of the second or further analyses are higher than results of the first one, the error might be caused by the sample getting more concentrated or, in both cases, changes in the concentrations of the calibration standards.

### 2.2.1. Methods for the determination of the random error of sampling

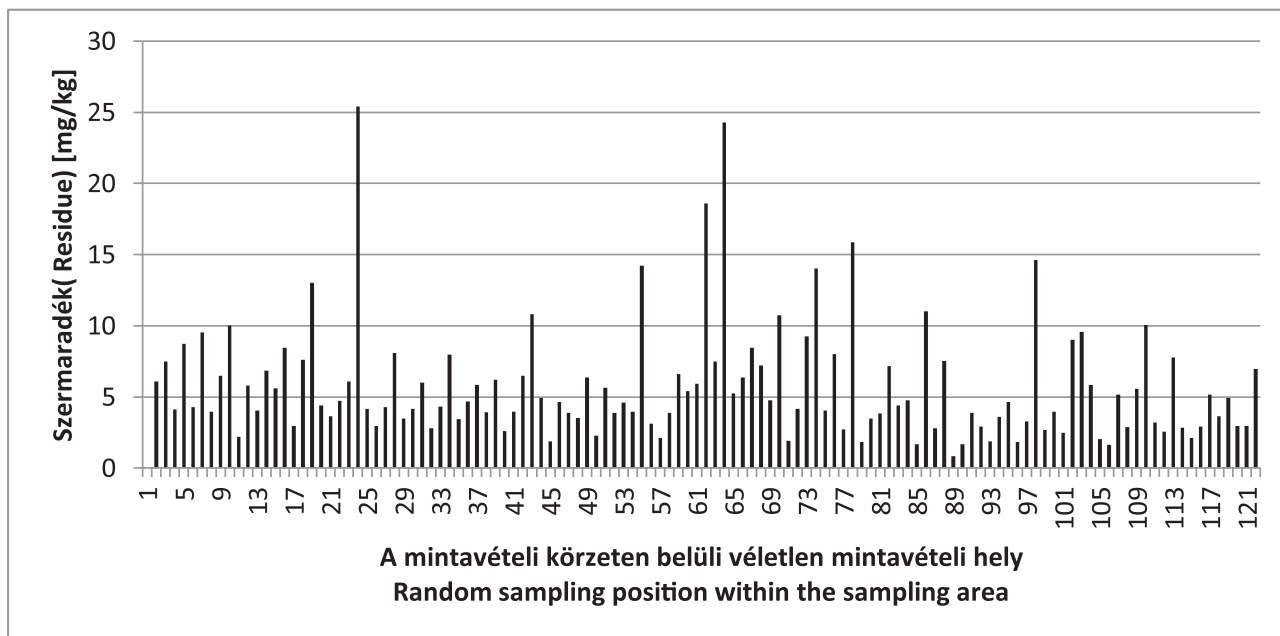
Values of  $CV_S$  and  $CV_{SS}$  are very significantly influenced by the sample mass. In most cases, the usual mass of the laboratory sample (1 to 5 kg) is orders of magnitude smaller than the mass of the lot sampled ( $M_L$ ). If all other factors are the same then, according to the classic equation of Gy [9], the random error of sampling is inversely proportional to the mass of the bulk or laboratory sample:

$$CV_S = Cd^3 \left( \frac{1}{M_{Tp}} - \frac{1}{M_L} \right) \quad (8)$$

where  $C$  is a constant depending on the shape of sample particles,  $d$  is the diameter of the particles at the 95th percentile of the particle size distribution,  $M_{Tp}$  is the mass of the sample fraction taken (depending on the section of the procedure examined, it can be a partial sample, a laboratory sample or an analytical sample,  $M_L$  is the mass of the material sampled (lot, bulk sample, laboratory sample). By substituting the proper mass values, the equation can also be used for the process of sample homogenization (chopping, grinding, blending) [10].

Determination of the random error of sampling were performed using two methods.

- (A) Composite samples containing the required number of primary units were taken from primary samples using random sampling with replacement, and the average pesticide residue content and its relative standard deviation were calculated [11]. This method was used to determine sampling uncertainty for pesticide residues analysis from 100 to 120 primary samples taken from 183 independent pesticide residue crop pairs.
- (B) Random error of sampling is determined from the pesticide residue contents of repeat samples taken from independently selected random positions of the treated area using the range statistics method [12]. This method was applied to determine sampling uncertainty using the following databases:
  - (i) parallel data series obtained from composite samples taken repeatedly from the different primary sample data sets according to method 'A';
  - (ii) 4 composite samples taken from random positions of each treated areas [13];



6. ábra. Klórtalonil szermaradék-koncentrációk a mintavételi körzetben véletlen mintavételi eljárással kiválasztott kelkáposzta növények levelein.

Figure 6. Chlorothalonil residue concentrations on savoy cabbage leaves taken from the sampling area using a random sampling procedure.

A 6. ábra a kelkáposzta növényeken mért, 1-25 mg/kg koncentráció tartományban változó, szermaradék eloszlást mutatja.

Az egyes növényi terményekben tág határok között változó szermaradék koncentráció következtében a szabvány mintavételi eljárások szerint [4,5] vett 5-10 elemi mintát tartalmazó laboratóriumi vizsgálatra kerülő minták szermaradék tartalma jelentős variabilitást mutat, melyet az ismételt azonos tételből vett minták átlagos szermaradék koncentrációjának szórásával jellemezhetünk, ami a mintavétel elkerülhetetlen bizonytalanságát, és nem a hibáját, jelzi.

Jelen közleményünkben összefoglaljuk a szermaradékok kezelt területen belüli eloszlását jellemző paramétereket. Az egyes termények mintavétel bizonytalanságának meghatározására végzett kutatási eredmények figyelembevételével javaslatot teszünk a forgalomba kerülő növényi termékek szermaradék ellenőrzésének gyakorlati megvalósítására úgy, hogy megadhatjuk a valószínűségét annak, hogy a mintázott tétel megfelel az engedélyezett növényvédőszer-maradék határértéknek.

## 2. A vizsgálatok véletlen hibáját, bizonytalanságát, befolyásoló tényezők

### 2.1 . Növényvédőszer-maradékok eloszlása a kezelt területen

Horváth és munkatársai [1] a szakirodalomban közölt és a saját célzott kísérletek eredményei alapján részletesen elemezték a növényvédőszer-maradékok kezelt területen belüli eloszlásának jellemző tulajdonságait 20 különböző növény és 46 növényvédőszer-hatóanyagot reprezentáló közel 19000 gyümölcs és zöldség terményben, vagy egy szűk körzetből vett kisméretű gyümölcs (pl. cseresznye) elemi mintáiban. A jelen munkánk szempontjából releváns következtetések röviden a következők:

- A növényvédőszer-maradékok eloszlásának jellemzésére a legalkalmasabb a relatív szórás, (variációs koefficiens, CV), mely lehetővé teszi a különböző átlagos szermaradék tartalmú tételekből vett minták szórásának összehasonlítását.
- A kezelt tételekből vett 100-120 elemi minta szermaradék tartalmának gyakorisági eloszlása esetenként a log-normál, Weibull vagy gamma függvényekkel írható le a legjobban, de a vizsgált 19 normalizált adatsor összességében a log-normál eloszlás eredményezte a legjobb illesztést. Átlagosan az egyedi termékek szermaradék tartalmának eloszlását 0.8-as CV értékkel lehetett jellemezni, kivéve a termőterületen egyenletesen elhelyezkedő zöldségféléket (pl. petrezselyem levél, sárgarépa, káposzta), melyek becsült átlagos CV értéke 0.6 volt.
- Az elemi minták szermaradék tartalma a magas koncentrációk felé erősen elnyújtott, ferde eloszlást mutat. Amennyiben a mintában a mennyiségi meghatározás (LOQ) határával egyenlő, vagy ahhoz közeli szermaradék értékek 5-10%-ban előfordulnak, akkor a minta CV értéke nagyobb lesz mint az azonos, de mérhető szermaradékot tartalmazó tételek.
- A felső koncentráció tartományban elnyújtott és nem folyamatos szermaradék eloszlás ellenére a központi eloszlás tétele

$$CV_n = \frac{CV_1}{\sqrt{n}} \quad (1)$$



jól alkalmazható a különböző elemszámú (n) összetett minták várható  $CV_n$  értékének a számítására az alapsokaság  $CV_1$  értékéből.

- (e) Az egy tételből vett 100-120 elemi minta csak egy becslést ad a tételben előforduló szermaradékok valódi eloszlására. Az ismételt mintavétel várható hatását  $\mu=1$  és  $CV=0.8$  paraméterű 500000 elemű alapsokaságból véletlen visszatevéses módszerrel vett 5-300 elemi mintákkal modellezték. A modellvizsgálatok alapján megállapították, hogy a változatlan összetételű alapsokaságból vett minták CV értéke tág határok között (120 értéket tartalmazó mintáknál 0.525-1.83) változik és > 300 elemi minta átlaga közelíti csak meg 1-2%-on belül az alapsokaság CV értékét. Kis elemszámú mintával az alapsokaság CV értékét alábecsüljük.

## 2.2. A véletlen mintavétellel kapott eredmények szóródásának (bizonytalanságának) meghatározása

Az analitikai vizsgálati eredmények (R) szóródását a várható érték körül számos tényező befolyásolja. Ezek közül a fő összetevők a mintavétel (S), mintaméret csökkentés (SS), minta homogenizálás (Sp) és az analízis (A) véletlen hibája. Ha feltételezzük, hogy a folyamat során a szermaradék koncentrációja nem változik, akkor a kapott eredmény relatív szórását, a hibaterjedés általános törvényének megfelelően, az alábbi összefüggéssel írhatjuk le:

$$CV_R = \sqrt{(CV_S^2 + CV_{SS}^2 + CV_{Sp}^2 + CV_A^2)} \quad (2)$$

Tekintve, hogy a mintavétel és a laboratóriumi vizsgálat térben és időben általában elkülönül egymástól, célszerű az eredmény összetett bizonytalanságát a mintavételre és a laboratóriumi vizsgálatra bontani.

$$CV_R = \sqrt{(CV_S^2 + CV_L^2)} \quad (3)$$

$$CV_L = \sqrt{(CV_{SS}^2 + CV_{Sp}^2 + CV_A^2)} \quad (4)$$

A folyamat végrehajtásától függően mindegyik fő komponens több részkomponensre bontható. Például: a nagyméretű tömeges mintát először átlós osztással csökkentjük, majd megfelelő keverőben alaposan összekeverjük és a kevert mintából vesszük ki a laboratóriumba küldött részmintát. Hasonlóan az analízis folyamatát bonthatjuk komponensekre (extrakció, tisztítás, származékképzés, kromatográfiás mennyiségi/minőségi meghatározás). Az analízis ( $CV_A$ ) részfolyamatokra bontására általában csak akkor van szükség, ha az analitikai mérés kombinált relatív bizonytalansága magasabb, mint az elfogadható szint. Ez esetben hasznos a részfolyamatok külön elemzése [5] annak érdekében, hogy feltárjuk a szóródás fő forrását és amennyiben lehetséges csökkentjük azt [6].

A laboratóriumi műveletek reprodukálhatóságát jellemző  $CV_1$  érték kényelmesen meghatározható és esetenként ellenőrizhető az ISO 17025 szabvány 5.9.1 szakaszában [7] előírt megismételt vizsgálatokkal. Az ismételt

- (iii) 12100 sample pairs of the pesticide experiments evaluated between 2007 and 2010 by the FAO/WHO Pesticide Residue Experts Committee [14].

The effect of sample size reduction on the uncertainty of pesticide residue values was not investigated in our current study, but there are suitable procedures available in the scientific literature that can be applied, if necessary [15, 16].

### 2.2.2 Random error of sample homogenization and analysis

The value of  $CV_A$  is determined by laboratories using an extensive range of validation test, and the accuracy and reliability of their analyses are verified by the results of proficiency tests. We would like to bring to your attention the fact that the results of both the recovery and proficiency tests provide information only about the value of  $CV_A$ , because they are either based on the quantitative determination of a known amount of standard added to the sample fraction to be analyzed, or the analytical sample is taken from a test material of controlled homogeneity.

Generally, very little attention is paid by laboratories to random and systematic errors caused by sample size reduction and homogenization. Sample size reduction and homogenization can be a problem especially in the case of large fruits [15] (e.g. melons, pomelos) and vegetables (e.g. cabbages) [17]. Even in the case of samples mixed well statistically, the uncertainty of test results increases roughly inversely proportionally to the mass of the analytical sample, when processing very small analytical samples ( $A_s=2-5$  g) compared to the mass of the laboratory sample ( $L_s=$  minimum 1-2 kg), according to equation 7 [10]. If other factors are the same, in case of a laboratory sample of 1 to 5 kg, the effect of the mass of the analytical sample on the value of  $CV_{Sp}$  is shown in **Table 1**. It is obvious from the table that if only 1 g of the analytical sample is extracted instead of 15 g, the uncertainty of homogenization increases almost 15-fold! At the same time, when using the same sample ratios, the uncertainty of the analytical results is practically not influenced by the mass of the homogenized laboratory sample. Furthermore, one has to consider that particle size distribution of the sample and, thus, random error of the homogenization step can be strongly influenced by the efficiency of the equipment used for sample chopping, the method of sample homogenization and the physical consistency of the processed sample [6, 18, 19]. A very significant systematic error, varying according to the conditions, can be caused by pesticide residue decomposition occurring in the first few minutes of homogenization [20]. Therefore, it is advisable to include repeat sample portion analyses, as one of the strongest internal quality management procedures, in each analytical series of the test program.

### 3. Optimization of pesticide residue analytical methods taking into account the combined analytical uncertainty

Depending on the goal of the analysis, methods applied by the laboratories for the individual steps of the analytical process should ensure that random and systematic errors of the pesticide residue values measured are as small as possible, and satisfy the requirements of the analytical purpose. The effects of the main components of Equation 2, such as sampling, homogenization and analysis, on the combined uncertainty of the results are illustrated with a few examples in **Table 2**. The table clearly shows that parallel laboratory analyses only make sense if the uncertainty of the operation to be repeated is significantly higher than that of other components.

vizsgálat, mint ismeretlen minta, végezhető a mintaméret csökkentés során kapott részminták homogenizátumából kivett és mélyhűtőben tárolt analitikai minták közül a minőségirányítási vezető által, az első vizsgálatot követően 2-4 héttel, kiválasztott mintával. Ez esetben a 4. egyenlettel meghatározott reprodukálhatóságra kapunk információt. Ha csak a laboratóriumi mintából nyert homogenizátumból vesszük ki az analitikai mintákat, akkor a számított relatív bizonytalanság csak a homogenizálás és az analitikai mérés együttes eredményére

$$CV'_L = \sqrt{(CV_{SP}^2 + CV_A^2)} \quad (5)$$

ad információt. A laboratóriumi vizsgálat reprodukálhatóságának relatív szórását két módszerrel becsülhetjük. Az első időszakban, 3-10 ismételt vizsgálat esetén célszerűen az 5. egyenletet alkalmazzuk.

$$CV_L = \left(\frac{\sum \Delta}{n}\right) / 1.128 \quad (6)$$

Nagyobb számú ismétlés esetén a  $CV_L$  értéke a 6. egyenlettel számítható [5]:

$$CV_L = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \Delta_i}{2n}} \quad (7)$$

ahol  $\Delta = \frac{R_1 - R_2}{\bar{R}}$  és  $n$  az ismételt vizsgálatok száma. Az 5. egyenlet három különböző időben végzett ismételt vizsgálat esetén 1,694 osztóval alkalmazható [8]. Mindkét egyenlet csak becslést ad a relatív bizonytalanságra, ezért a számított eredmények kis mértékben különbözőek lehetnek. Az 6. egyenlet csak akkor alkalmazható, hogy ha feltételezhető, hogy a vizsgálati eredményt csak a véletlen hibák befolyásolják. Célszerű ezért először az első és a további vizsgálatok korrelációját megvizsgálni. Ha például a második vagy további alkalommal kapott eredmények szignifikánsan alacsonyabbak, mint az első alkalommal kaptak, akkor nagyon valószínű, hogy vizsgált szermaradék bomlik a tárolás során. Ha a második vagy további mérések eredménye magasabb mint az első, akkor a hibát például a minta koncentrációja vagy mindkét esetben a kalibráló standard sorozat koncentrációváltozása okozhatja.

2.2.1. A mintavétel véletlen hibájának meghatározási módszerei

A  $CV_s$  és  $CV_{ss}$  értékét a kivett minta tömege igen jelentősen befolyásolja. A mintázott tétel tömegéhez ( $M_L$ ) képest a laboratóriumi minta szokásos 1-5 kg tömege az esetek nagy részében nagyságrendekkel kisebb. Egyéb tényezők változatlanul maradása esetén Gy klasszikus egyenlete szerint [9] a mintavétel véletlen hibája az ömlesztett vagy laboratóriumi minta tömegével fordítottan arányos:

$$CV_s = Cd^3 \left( \frac{1}{M_{Tp}} - \frac{1}{M_{Ls}} \right) \quad (8)$$

ahol  $C$  a mintarészecskék alakjától függő állandó,  $d$  a részecskék átmérője a részecskéeloszlás felső 95%-os percentilisének,  $M_{Tp}$  a kivett mintahányad (a folyamat vizsgált szakaszától függően lehet részmin-

ta, laboratóriumi minta, analitikai minta) tömege,  $M_L$  a mintázott anyag (tétel, ömlesztett minta, laboratóriumi minta) tömege. Az egyenlet a megfelelő tömegek behelyettesítésével alkalmazható a minta homogenizálás (aprítás, darálás, turmixolás) folyamatára is [10].

A mintavétel véletlen hibájának meghatározását két módszerrel végeztük.

- (A) Az elemi mintákból véletlen visszahelyezéssel mintavétellel vesszük a kívánt elemszámú összetett mintát, számítjuk a minta átlagos szermaradék tartalmát illetve az átlagos szermaradék relatív szórását [11]. Ezt a módszert alkalmazzuk a mintavétel bizonytalanságának meghatározására a 183 független szermaradék-termény párból vett 100-120 elemi mintában mért szermaradékokból.
- (B) A kezelt területekről függetlenül kiválasztott véletlen pozíciókból ismételtlen vett minták szermaradék tartalmából a terjedelem (range) statisztika módszerével [12] határozzuk meg a mintavétel véletlen hibáját. A módszert alkalmazzuk a mintavétel bizonytalanságának meghatározására az alábbi adatbázisok felhasználásával:
  - (i) az egyes elemi minta adathalmazokból az „A” módszer szerint ismételtlen vett összetett mintákból nyert párhuzamos adatsorok;
  - (ii) a kezelt területekről véletlen pozíciókból vett 4-4 összetett minták [13];
  - (iii) a FAO/WHO Növényvédőszer-maradékok Szakértői Bizottsága által 2007-2010 között értékelt szerkísérletekből [14] származó 12100 mintapár.

A mintaméret csökkentésének hatását a mért növényvédőszer-maradék értékek bizonytalanságára jelen tanulmányunkban nem vizsgáltuk, de a szakirodalomban megfelelő eljárások találhatóak, melyek szükség esetén alkalmazhatók [15, 16].

2.2.2 A mintahomogenizálás és analízis véletlen hibája

A  $CV_A$  értékét a laboratóriumok széleskörű validálási vizsgálatokkal határozzák meg és a körvizsgálatok (proficiency tests) eredményével igazolják méréseik pontosságát és megbízhatóságát. Fel kell hívnunk a figyelmet arra, hogy mind a visszanyerési, mind a körvizsgálatok eredményei csak a CVA értékére adnak információt, mert vagy a vizsgálandó mintahányadhoz adott ismert mennyiségű sztenderd mennyiségi meghatározásán, vagy pedig ellenőrzött homogenitású vizsgálati anyagból veszik ki az analitikai mintát.

A laboratóriumok általában igen kevés figyelmet fordítanak a mintaméret csökkentés és a homogenizálás okozta véletlen és rendszeres hibákra. A mintaméret csökkentés és homogenizálás különösen a nagyméretű gyümölcsök [15] (pl. dinnye, pomeló) és zöldségek (pl. káposzta) [17] esetében jelenthet problémát. A laboratóriumi minta ( $L_s$  = minimum 1-2 kg) tömegéhez képest nagyon kis analitikai minta ( $A_s$  = 2-5 g) feldolgozása pedig még statisztikailag jól kevert minták eseté-



ben is a 7. egyenlet szerint az analitikai minta tömegével közelítőleg fordítottan arányosan növeli az analízis eredményének bizonytalanságát [10]. Ha az egyéb tényezők változatlanul maradnak 1 - 5 kg-os laboratóriumi minta esetén az analitikai minta tömegének hatását a  $CV_{sp}$  értékre az **1. táblázat** szemlélteti. A táblázatból jól látható, hogy ha 15 g analitikai minta extrakciója helyett csak 1 g mintát extrahálunk a homogenizálás bizonytalansága közel 15 szörösére nő! Ugyanakkor ilyen mintaarányok mellett a homogenizált laboratóriumi minta tömege gyakorlatilag nem befolyásolja az analitikai mérési eredmény bizonytalanságát. Továbbá, nem hagyható figyelmen kívül, hogy a minta aprítására alkalmazott berendezések hatékonysága a minta homogenizálás módszere és a feldolgozott minta fizikai állaga igen jelentősen befolyásolja az aprított minta részecskeeloszlását és annak következtében a homogenizálási lépés véletlen hibáját [6, 18, 19]. A homogenizálás első néhány percében bekövetkező szermaradék bomlás pedig igen jelentős, a körülményektől függően változó, rendszeres hibát okozhat [20]. Ezért az ismételt mintahányad vizsgálatokat, mint az egyik leg-erősebb belső minőségbiztosítási eljárást, célszerű analitikai sorozatonként a vizsgálati programba iktatni.

1. táblázat. Az analitikai minta tömegének hatása a mintahomogenizálás ( $CV_{sp}$ ) bizonytalanságára

Table 1. Influence of the mass of the analytical sample on the uncertainty of sample homogenization ( $CV_{sp}$ )

Analitikai minta (Analytical sample) [g]	Laboratóriumi minta (laboratory sample)		
	1 kg	2 kg	5kg
	<b>Szorzó faktor / Multiplier</b>		
1	15,2	15,1	15,0
2	7,6	7,5	7,5
5	3,0	3,0	3,0
10	1,5	1,5	1,5
15	1,0	1,0	1,0
25	0,6	0,6	0,6
50	0,3	0,3	0,3

Megjegyzés: A  $CV_{sp}$  a 15 g analitikai mintához viszonyítva a feltüntetett szorzófaktorral változik

Note: Changes in  $CV_{sp}$  are calculated relative to 15 g of analytical sample.

### 3. A növényvédőszer-maradék vizsgálati módszerek optimalizálása a kombinált mérési bizonytalanság figyelembevételével

A vizsgálat céljától függően a laboratóriumoknak a vizsgálati folyamat egyes lépéseinél olyan módszereket célszerű alkalmazni, melyek biztosítják, hogy a mért szermaradék érték véletlen és rendszeres hibája a lehető legkisebb legyen, illetve megfeleljen a vizsgálati cél követelményeinek. A második egyenletben szereplő fő összetevők közül a mintavétel, homogenizálás és analízis bizonytalanságának a hatását az eredmény kombinált bizonytalanságára a **2. táblázat** néhány példán keresztül illusztrálja. A táblázatból jól látható, hogy a laboratóriumi párhuzamos vizsgálatoknak csak akkor van értelme, ha az ismételt művelet bizonytalansága lényegesen magasabb, mint a többi komponensé.

Uncertainty of the results is generally not reduced by parallel extraction of analytical samples taken from the homogenized sample fraction, except when the mass of the analytical sample is 2 to 5 g, compared to the usual 15 to 20 grams [21]. The table also shows that, usually, results will be much more reliable if, instead of parallel laboratory analyses, not one, but at least two independently taken random samples are analyzed once each. This latter procedure is advisable if taking the second sample does not increase the total cost of the analysis significantly.

Frequency distribution of the pesticide residue content of random samples taken repeatedly from the given lot is strongly influenced by the combined uncertainty of the pesticide residue concentration of the sample. Relative and combined frequency distributions of the pesticide residue content of random samples taken repeatedly from a lot having an average pesticide residue content of 0.4 mg/kg, using a procedure with combined uncertainties of CV 0.38 and 0.48, are shown in **Figure 7**. The figure clearly shows that frequency maximum of pesticide residue occurrences is under the average pesticide residue value of the lot; in addition, with increasing CV values the skewness of the distribution increases, as shown by the concentrations corresponding to the percentile values selected (**Table 3**).

### 4. Characteristic properties of pesticide residue distribution

A few characteristic parameters of the pesticide residue data populations measured in the primary units of independent lots, and of two thousand composite samples containing 10 primary units each, generated from each population by repeated random sampling with replacement according to procedure 2.2.1.A, are listed in **Table 4**. The following conclusions, helpful for understanding the characteristic properties of pesticide residue distributions, can be drawn:

- The average CV value of crops evenly distributed over the growing area (e.g. parsley leaves, carrots, cabbages) is approximately 0.6. For other crops, the CV value is within the minimum - maximum range of 0.53-1.95 found in samples of 100 elements generated from log-normal distribution with 0.8 CV value.
- In model experiments, higher than expected CV values were found in the plum-phosalone and orange-malathion data populations. Relative and cumulated frequency distribution of pesticide residues are shown in **Figures 8** and **9**. The upper diagram in **Figure 8** shows a multimodal distribution, indicating that the sampled lot comes from several growing areas. The lower diagram shows the pesticide residue distribution of a lot coming from a single growing area. **Figure 9** shows the pesticide residue distribution of a lot of oranges having a CV value somewhat higher than the expected maximum. Again, the multimodal distribution, although not as pronounced as in the case of the plums, indicates that the lot presumed to be uniform comes from several growing areas. These results, including the distribution of pirimiphos-methyl, shown in **Figure 13**, call attention to the fact that one has to be extra careful when evaluating the analytical results of potentially mixed lots, because they can sometimes contain samples with high pesticide residue concentrations, indicated in the figures by normalized pesticide residue values of over 3.5.
- Standard deviation of the average pesticide

A homogenizált mintahányadból kivett analitikai minták párhuzamos extrakciója általában nem csökkenti számottevően az eredmény bizonytalanságát kivéve azon esetet, amikor az analitikai minta tömege 2-5 g szemben a szokásos 15-20 grammal [21]. A táblázatból az is kiténik, hogy általában sokkal megbízha-

több eredményt kapunk, ha a laboratóriumi párhuzamos vizsgálat helyett nem egy, hanem legalább két egymástól függetlenül vett véletlen mintát egy-egy ismétlésben analizálunk. Az utóbbi eljárás akkor javasolható, ha a második minta vétele nem növeli jelentősen a vizsgálat teljes költségét.

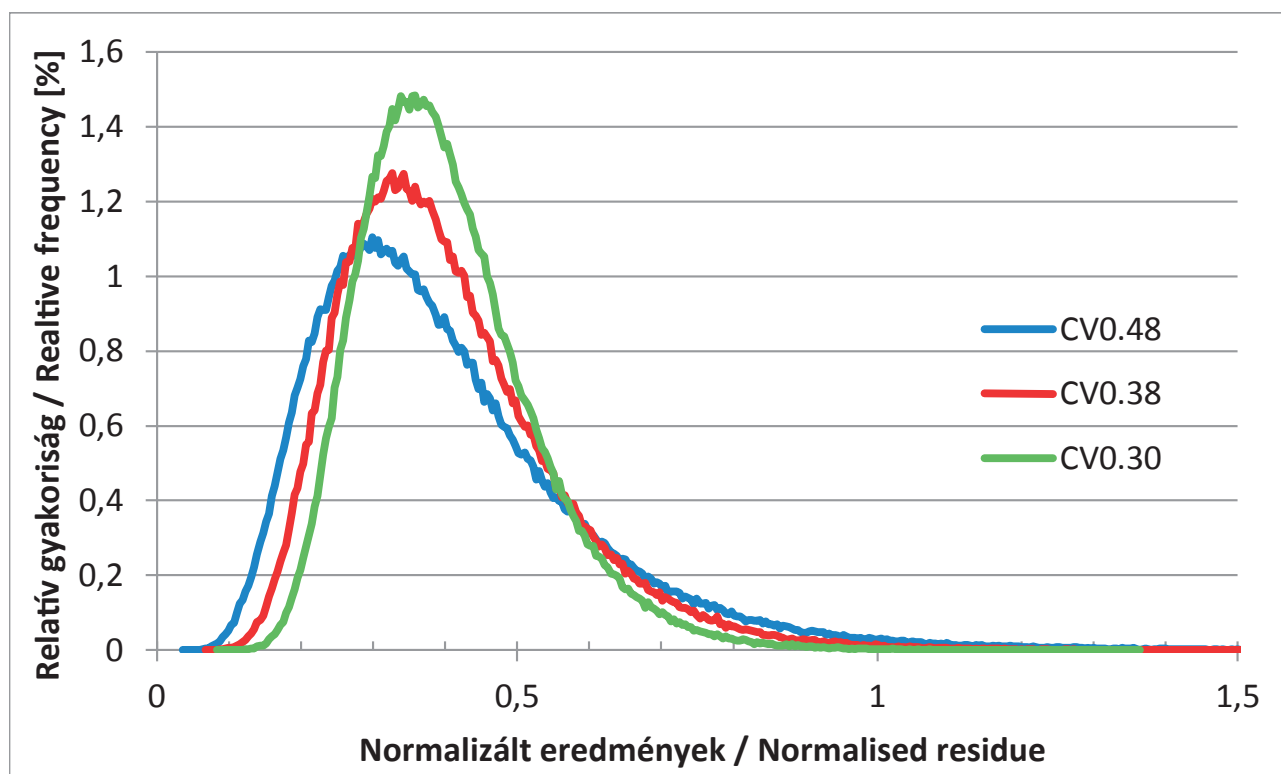
2. táblázat. A kombinált mérési bizonytalanság alakulása az egyes műveletek bizonytalanságának és az ismétlések számának függvényében

Table 2. Combined measurement uncertainty as a function of the uncertainty of individual operations and the number of replicates

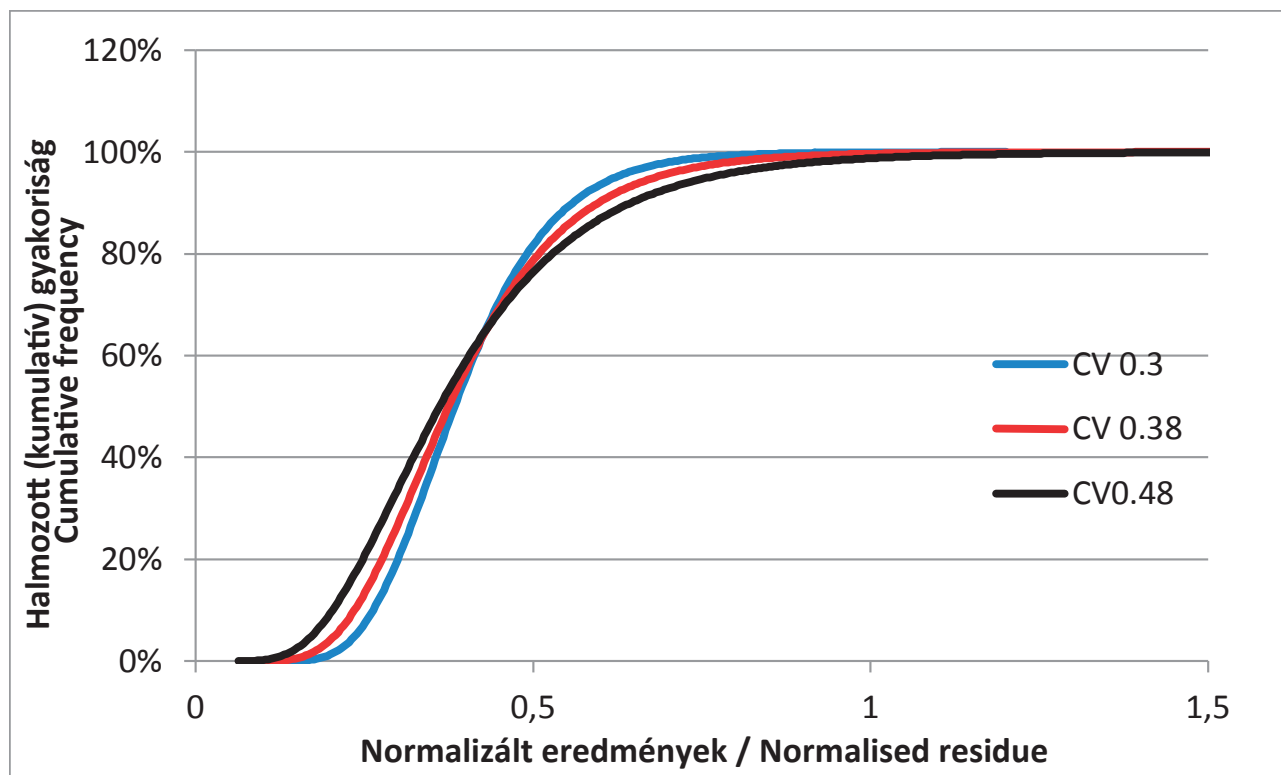
$CV_S$	$p$	$CV_{Sp}$	Ismétlés Replicate	$CV_A$	Ismétlés Replicate	$CV_R$
0.224	1	0.18	1	0.1	1	0.30
0.31	1	0.15	2	0.1	1	0.34
0.31	1	2.25	1	0.1	1	2.27
0.31	2	2.25	1	0.1	1	2.26
0.31	1	2.25	2	0.1	1	1.62
0.31	1	2.25	2	0.1	2	1.62
0.31	1	2.25	5	0.1	1	1.06
-	-	2.25	5	0.1	1	1.01
-	-	0.18	1	0.1	1	0.21
0.31	2	0.15	1	0.1	1	0.28
0.36	1	0.15	1	0.1	1	0.40
0.36	2	0.15	1	0.1	1	0.31
0.36	2	0.15	1	0.1	2	0.30
0.36	2	0.15	2	0.1	1	0.29

Megjegyzés: A homogenizált minta ismételt vizsgálata a homogenizátumból párhuzamosan kivett analitikai minták számát jelöli. Az ismételt analízis az extrakt párhuzamos vizsgálatát jelenti.

Note: Repeat analysis of a homogenized sample means the number of replicate analytical samples taken from the homogenizate. Repeat analysis means parallel testing of the extract.







7. ábra. A 0.4 mg/kg átlagos szermaradék koncentrációjú tételből 0.3, 0.38 és 0.48 kombinált relatív bizonytalanságú eljárással vizsgált minták szermaradék koncentrációjának relatív és kumulált gyakoriságú eloszlási diagramjai. Megjegyzés: A CV= 0.38-as és 0.48-as vizsgálati eljárással nyert mintákban a szermaradék a 100%-os gyakoriságot 1.57 mg/kg és 2.12 mg/kg értékeknél éri el. A szemléletesség érdekében az 1.5 mg/kg-nál magasabb értékeket, amelyek előfordulási valószínűsége kisebb mint 0.01%, az ábra nem mutatja.

Figure 7. Relative and combined frequency distribution diagrams of pesticide residue concentrations of samples of a lot with an average pesticide residue concentration of 0.4 mg/kg, analyzed using procedures with combined relative uncertainties of 0.3, 0.38 and 0.48, respectively. Note: In samples analyzed using the procedures with CV values of 0.38 and 0.48, 100% frequency of pesticide residue is reached at concentrations of 1.57 and 2.12 mg/kg, respectively. For clarity's sake, values over 1.5 mg/kg, having probabilities of less than 0.01%, are not shown in the figure.

3. táblázat. A vizsgálati eljárás kombinált bizonytalanságának a hatása a 0.4 mg/kg átlagos szermaradékot tartalmazó tételből vett véletlen minták felső percentiliseihez tartozó szermaradék koncentrációkra

Table 3. Influence of the combined uncertainty of the analytical procedure on the pesticide residue concentrations at the upper percentages of random samples taken from a lot with an average pesticide residue concentration of 0.4 mg/kg.

Kiválasztott percentilisek Selected percentages	Kombinált vizsgálati bizonytalanság, CV Combined analytical uncertainty, CV		
	0,30	0,38	0,48
	<b>Koncentráció [mg/kg] Concentration [ mg/kg]</b>		
95,0%	0,62	0,70	0,76
98,0%	0,70	0,79	0,91
99,0%	0,76	0,87	1,03
99,5%	0,82	0,95	1,16

A 7. ábrán jól látható, hogy a szermaradék előfordulás gyakorisági maximuma a tétel átlagos szermaradék értéke alatt van; továbbá a CV érték növekedésével az eloszlás ferdesége nő, amit a kiválasztott percentiliseknek megfelelő koncentrációk is mutatnak (3. táblázat).

#### 4. A növényvédőszer-maradékok eloszlásának jellemző tulajdonságai

A vizsgálatainkhoz a független tételek elemi egységeiben mért szermaradék adatsokaságok, valamint azokból a 2.2.1.A eljárással ismételt visszahelyezéssel véletlen mintavétellel generált két-két ezer 10-10 elemi egységet tartalmazó összetett minták néhány jellemző paraméterét a 4. táblázat tartalmazza.

4. Táblázat / Table 4

Termény Commodity	Pesticide	Elemi minták (Primary samples)				Összetett minták (Composite samples) n= 10				
		Átlag Average	Max/ min	Rel, dif, 95%	CV	Min	Átlag Average	Max	Max/ min	Rel, dif 95%
Petrezselyem levél <i>Parsley leaf</i>	Azoxystrobin	15,0	11	1,656	0,47	8,72	15,00	24,45	2,80	0,60
	Difenoconazole	112,9	8	1,396	0,36	75,87	112,54	157,95	2,08	0,45
	S-Metholachlor	2,39	13	2,257	0,57	1,46	2,38	4,64	3,18	0,71
	Azoxystrobin	24,1	8	1,733	0,47	15,62	24,04	40,60	2,60	0,56
	Difenoconazole	133,8	7	1,446	0,39	87,23	134,19	208,64	2,39	0,49
	Linuron	68,3	4	1,066	0,27	48,97	68,19	88,29	1,80	0,34
	S-Metholachlor	4,8	7	1,098	0,31	3,32	4,76	6,39	1,92	0,38
	Azoxystrobin	2,75	294	3,461	1,34	0,68	2,76	8,06	11,85	1,56
Difenoconazole	12,4	209	3,941	1,64	2,91	12,23	49,83	17,12	1,91	
Sárgarépa <i>Carrot</i>	Azoxystrobin	0,072	5	1,395	0,35	0,05	0,07	0,11	2,10	0,43
	Linuron	0,082	17	1,902	0,48	0,06	0,082	0,11	1,94	0,40
	Azoxystrobin	0,082	5	1,232	0,33	0,06	0,08	0,11	1,98	0,40
	Cyproconazole	0,173	7	1,499	0,36	0,11	0,17	0,25	2,24	0,43
	Terfluthrin	0,034	41	2,754	0,91	0,01	0,03	0,08	8,81	1,06
	Trifloxystrobin	0,020	32	3,459	0,98	0,01	0,02	0,05	5,43	1,14
	Azoxystrobin	0,013	6	1,363	0,37	0,01	0,01	0,02	2,07	0,45
	Cyproconazole	0,012	10	1,824	0,48	0,01	0,01	0,02	2,93	0,60
	Linuron	0,017	72	3,894	0,99	0,00	0,02	0,04	9,83	1,20
Terfluthrin	0,152	62	2,343	0,74	0,07	0,15	0,30	4,21	0,89	
Fekete ribiszke <i>Black current</i> Cseresznye <i>Cherry</i>	Vinclozolin	0,279	180	3,154	0,86	0,28	0,62	1,14	4,09	0,89
	Procymidone	0,621	183	2,771	0,73	0,24	0,62	1,14	4,75	0,90
	Parathion-methyl	0,301	274	3,183	1,11	0,09	0,30	0,83	9,77	1,36
	Chlorpyrifos	0,526	916	3,750	1,7	0,12	0,53	2,91	23,72	1,99
	Lambda Cyhalothrin	0,052	32	2,031	0,54	0,03	0,05	0,08	3,13	0,65
	Captan	1,181	195	2,726	0,84	0,29	1,18	2,41	8,37	1,03
	Phosalone	2,212	212	2,256	0,68	0,85	2,23	3,83	4,50	0,80
	Flusilazole	0,117	25	2,123	0,63	0,05	0,12	0,19	3,62	0,75
	Dimethoate	0,190	84	4,491	1,08	0,04	0,19	0,42	9,54	1,34
Fejes káposzta <i>Head cabbage</i>	Chlorpyrifos	0,031	17	1,496	0,39	0,02	0,03	0,05	2,40	0,51
	Triazophos	0,169	25	1,168	0,28	0,11	0,17	0,22	1,99	0,39
	Chlorpyrifos	0,010	18	1,838	0,47	0,01	0,01	0,02	2,98	0,60
	Phenthoate	1,78	12	1,611	0,44	1,03	1,78	2,73	2,66	0,57
	Profenofos	3,30	9	1,495	0,39	2,02	3,32	4,76	2,36	0,47
	Phenthoate	0,289	16	1,536	0,44	0,16	0,29	0,45	2,74	0,54
	Profenofos	0,900	14	1,493	0,44	0,49	0,90	1,44	2,93	0,56
Endivia <i>Endive</i>	Tolclofos-methyl	1,61	7	1,297	0,41	1,10	1,61	2,41	2,20	0,51
	Tolclofos-methyl	1,40	10	1,533	0,42	0,80	1,40	2,04	2,55	0,53
Kelkáposzta <i>Kale</i>	Chlorpyrifos-methyl	0,229	8	1,547	0,4	0,14	0,23	0,33	2,31	0,50
	Alpha-Cypermethrin	0,106	55	2,109	0,56	0,05	0,11	0,18	3,52	0,67
	Indoxacarb	1,14	8	1,555	0,4	0,70	1,14	1,63	2,33	0,48
	Metalaxyl	0,098	73	2,143	0,53	0,05	0,10	0,16	3,34	0,68
	Chlorothal	5,74	30	2,471	0,7	2,93	5,72	11,62	3,96	0,87
	Chlorpyrifos	0,192	3	0,835	0,21	0,14	0,19	0,24	1,68	0,29
	Profenofos	0,464	4	1,030	0,26	0,34	0,46	0,68	1,98	0,33
	Metalaxyl	0,162	317	11,042	2,66	0,01	0,16	0,74	75,19	2,95
	Idoxacarb	0,482	385	3,124	0,91	0,09	0,48	0,95	10,83	1,14
Uborka <i>Cucumber</i>	Lambda-Cyhalothrin	0,003	14	5,455	1,53	0,00	0,00	0,01	7,63	1,69
	Pirimicarb	0,056	16	3,116	0,94	0,02	0,06	0,12	6,44	1,16
	Vinclozolin	0,066	43	2,317	0,55	0,04	0,07	0,11	3,03	0,67
	Pirimyphos-methyl	0,195	1102	3,391	0,85	0,08	0,20	0,40	4,80	1,02
	Hexaconazole	0,010	298	4,179	1,06	0,00	0,01	0,02	5,33	1,15
	Acetamiprid	0,052	316	3,151	1,39	0,01	0,05	0,19	14,90	1,73
	Pymetrozine	0,013	65	6,168	1,41	0,00	0,01	0,04	12,62	1,62
	Chlortalonil	0,387	7	1,478	0,43	0,21	0,39	0,60	2,84	0,55
	Chlorpyrifos-methyl	0,120	42	2,035	0,5	0,06	0,12	0,22	3,53	0,63
	Tebuconazole	0,093	30	2,439	0,66	0,03	0,09	0,16	4,98	0,79
	Tolyfluanid	0,123	28	2,418	0,8	0,06	0,12	0,28	4,88	0,96



Termény Commodity	Pesticide	Elemi minták (Primary samples)				Összetett minták (Composite samples) n= 10				
		Átlag Average	Max/ min	Rel, dif, 95%	CV	Min	Átlag Average	Max	Max/ min	Rel, dif 95%
Uborka Cucumber	Chlorpyrifos-methyl	0,692	32	1,156	0,24	0,48	0,69	0,93	1,94	0,35
	Pirimifos-methyl	0,721	55	1,086	0,22	0,53	0,72	0,95	1,78	0,34
Szőlő Grape	Chlorpyrifos-methyl	0,248	98	2,394	0,58	0,13	0,25	0,45	3,37	0,75
	Methidathion	0,123	64	2,443	0,74	0,05	0,12	0,24	4,63	0,89
	Chlorpyrifos	1,266	628	3,223	0,94	0,29	1,26	2,70	9,19	1,14
	Triadimefon	0,151	84	3,186	0,86	0,05	0,15	0,29	5,79	1,05
	Alphamethrin	0,263	198	3,471	0,93	0,09	0,26	0,59	6,81	1,14
	Vinclozoline	1,493	82	2,700	0,92	0,64	1,49	3,97	6,17	1,18
	Matalaxyl	0,324	108	2,461	0,64	0,15	0,32	0,57	3,71	0,76
	Chlorpyrifos	0,509	54	3,181	0,99	0,22	0,51	1,33	6,12	1,23
	Iprodione	0,654	448	3,279	0,97	0,18	0,66	1,63	8,91	1,16
	Azinphos methyl	0,286	159	2,632	0,81	0,10	0,29	0,69	7,03	0,97
	Chlorpyrifos	2,373	1	0,308	0,07	2,21	2,37	2,57	1,16	0,09
	Chlorpyrifos	0,517	13	1,759	0,47	0,32	0,52	0,79	2,47	0,59
	Folpet	3,385	13	2,096	0,57	1,58	3,38	5,97	3,79	0,66
	Vinclozolin	0,975	549	3,333	0,99	0,33	0,99	2,65	8,01	1,24
Fejes saláta Head lettuce	Vinclozolin	0,983	172	3,305	0,99	0,33	0,98	2,39	7,31	1,17
	Permethrin	0,049	227	3,795	1,53	0,01	0,05	0,18	17,60	1,99
	Indoxacarb	0,470	3	0,734	0,21	0,38	0,47	0,56	1,48	0,26
	Procymidone	0,618	4	1,041	0,25	0,49	0,62	0,82	1,67	0,31
	Alphamethrin	0,268	8	1,260	0,44	0,18	0,27	0,42	2,36	0,54
	Alphamethrin	0,056	65	3,903	0,99	0,02	0,06	0,13	6,37	1,12
	Endosulfan	0,032	89	3,040	1,22	0,01	0,03	0,11	8,70	1,52
	Chlorthalonil	0,654	22	1,900	0,62	0,23	0,66	1,07	4,65	0,77
	Chlorpyrifos-Methyl	0,231	36	2,044	0,66	0,14	0,23	0,48	3,56	0,83
	Pirimifos-Methyl	0,247	31	1,932	0,61	0,16	0,24	0,59	3,73	0,77
Mangó Mango	Parathion.Methyl	0,227	421	2,901	0,9	0,09	0,23	0,52	6,06	1,13
	Metidation	0,212	334	2,769	0,79	0,09	0,21	0,50	5,62	1,00
	Cypermethrin	1,244	19	1,901	0,46	0,73	1,25	1,90	2,61	0,56
	Deltamethrin	2,358	33	3,902	0,9	0,99	2,38	5,47	5,51	1,05
	Chlorpyrifos	0,072	238	2,295	0,49	0,04	0,07	0,12	3,38	0,66
	Cypermethrin	0,971	339	2,134	0,63	0,40	0,97	1,75	4,36	0,80
	Chlorpyrifos	0,546	2352	2,738	0,8	0,15	0,55	1,05	7,04	1,01
	Phentoate	1,195	2204	2,537	0,81	0,26	1,19	2,38	9,06	0,99
	Chlorpyrifos	0,276	557	3,056	0,97	0,04	0,27	0,60	13,83	1,21
	Phentoate	0,672	1181	2,989	0,98	0,08	0,67	1,30	15,52	1,17
	Chpyrifos	0,769	24	2,200	0,5	0,37	0,77	1,29	3,51	0,71
	Prothiophs	1,220	36	2,171	0,51	0,52	1,21	1,97	3,78	0,73
Papaya	Diazinon	0,145	16	1,825	0,53	0,08	0,14	0,23	3,03	0,64
	Parathion-methyl	0,145	42	2,535	0,73	0,03	0,15	0,28	8,12	0,88
	Diazinon	0,042	86	2,468	0,63	0,02	0,04	0,07	3,95	0,79
	Deltamethrin	0,0094	26	1,854	0,5	0,01	0,01	0,02	2,82	0,63
Tök Summer squash	Parathion-methyl	0,056	87	5,035	1,11	0,02	0,06	0,14	7,50	1,30
	Methidathion	0,081	85	4,242	1,05	0,03	0,08	0,25	9,87	1,20
	Parat. Met.	0,066	294	2,577	0,73	0,03	0,07	0,12	4,43	0,92
	Methidathion	0,146	302	2,046	0,6	0,07	0,15	0,29	3,96	0,77
Szamóca Strawberry	Vinclozolin	0,223	69	2,635	0,7	0,11	0,22	0,43	3,83	0,84
	Procymidone	0,565	66	2,295	0,69	0,28	0,57	1,14	4,06	0,85
	Alpha-Cypermethrin	0,034	60	2,643	0,69	0,01	0,03	0,07	4,53	0,84
	Procymidone,	0,125	6	1,336	0,3	0,09	0,12	0,18	2,14	0,40
	Tolyfluanid,	0,047	22	2,612	0,85	0,02	0,05	0,11	4,73	0,97
	Endosulfan	0,040	64800	2,440	0,9	0,02	0,04	0,10	6,29	1,12
	Diazinon	0,030	26620	3,194	0,71	0,01	0,03	0,06	5,46	0,91
	Procymidone	0,130	4	1,158	0,29	0,10	0,13	0,17	1,76	0,34
Tolyfluanid	0,050	15	2,511	0,8	0,02	0,05	0,11	4,96	0,94	
Cukkini Zucchini	Axoxystrobin	0,036	38	1,540	0,39	0,02	0,04	0,05	2,64	0,47
	Axoxystrobin	0,026	25	2,479	0,68	0,01	0,03	0,06	4,23	0,84
Alma Apple	Carbaryl	1,412	15	1,812	0,5	0,70	1,41	2,25	3,21	0,62
	Diphenylamine	0,473	20	2,389	0,63	0,24	0,47	0,80	3,37	0,75
	Thiabendazole	1,021	9	2,088	0,5	0,65	1,02	1,69	2,59	0,62

Termény Commodity	Pesticide	Elemi minták (Primary samples)				Összetett minták (Composite samples) n= 10				
		Átlag Average	Max/ min	Rel, dif, 95%	CV	Min	Átlag Average	Max	Max/ min	Rel, dif 95%
Alma <i>Apple</i>	Carbaryl	0,357	380	3,046	0,91	0,09	0,36	0,74	8,07	1,10
	Carbaryl	0,152	34	2,843	0,83	0,05	0,15	0,30	6,08	1,00
	Phosalone	0,607	96	2,774	0,83	0,16	0,61	1,22	7,80	1,02
	Phosalone	0,482	22	1,963	0,55	0,24	0,48	0,87	3,60	0,68
	Chlorpyrifos	0,151	270	3,702	1,19	0,05	0,15	0,46	8,37	1,45
	Triazophos	0,558	432	3,444	0,97	0,12	0,56	1,38	11,04	1,17
	Carbaryl	0,084	110	5,238	1,53	0,01	0,08	0,25	50,36	1,82
	Chlorpyrifos	0,056	53	2,877	0,78	0,02	0,06	0,11	6,22	0,95
	Triazophos	0,330	70	3,657	1,27	0,03	0,32	0,86	34,50	1,59
	Carbaryl	1,055	7	1,551	0,39	0,61	1,06	1,50	2,43	0,50
	Carbaryl	0,503	27	2,446	0,67	0,21	0,51	0,92	4,40	0,82
	Chlorpyrifos	0,085	58	4,236	1,15	0,02	0,09	0,24	10,45	1,38
	Carbaryl	0,977	273	2,021	0,64	0,35	0,97	1,70	4,80	0,77
	Cypermethrins	0,061	34	3,264	0,86	0,03	0,06	0,15	5,64	1,06
Banán <i>Banana</i>	Chlorpyrifos	0,008	33	2,816	1,18	0,00	0,01	0,03	6,15	1,39
	Chlorpyrifos	0,009	50	1,847	0,88	0,00	0,01	0,02	5,71	1,09
Kivi	Phosmet	0,071	427	4,286	1,29	0,01	0,07	0,19	18,41	1,61
	Parathion-Methyl	0,009	10	1,331	0,36	0,01	0,01	0,01	2,38	0,45
	Quinalphos	0,022	206	3,821	1,02	0,01	0,02	0,06	10,20	1,23
	Diazinon	0,011	35	2,192	0,58	0,01	0,01	0,02	3,76	0,75
Narancs <i>Orange</i>	Bromopropylate	0,356	98	2,007	0,57	0,11	0,36	0,55	5,00	0,70
	Imazalil	1,729	7	1,446	0,34	1,21	1,72	2,52	2,09	0,41
	Malathion	0,183	70	2,417	0,67	0,08	0,18	0,34	4,49	0,81
	Methidathion	0,671	292	3,137	0,9	0,13	0,67	1,39	11,09	1,07
	Parathion-Methyl	0,468	211	3,839	1,25	0,03	0,47	1,32	52,58	1,52
	Imazalil	0,410	103	1,467	0,42	0,25	0,41	0,61	2,45	0,52
	Chlorpyrifos	0,074	86	2,977	0,83	0,02	0,07	0,15	7,84	1,04
	Imazalil	0,593	469	2,216	0,58	0,28	0,59	0,97	3,41	0,71
	Methidathion	0,433	420	2,587	0,64	0,28	0,59	0,97	3,41	0,71
	Dicofol	0,295	449	3,055	1,08	0,01	0,29	0,61	59,59	1,33
	Dimethoate	0,061	115	5,079	1,46	0,00	0,06	0,18	50,03	1,69
	Imazalil	0,117	111	2,645	0,68	0,04	0,12	0,21	5,02	0,86
	Malathion	0,049	168	7,761	2,02	0,00	0,05	0,20	58,54	2,33
	Mecarbam	0,425	473	2,758	1,01	0,00	0,42	0,98	279,24	1,24
Tertradifon	0,066	77	2,617	0,98	0,00	0,07	0,13	38,56	1,21	
Őszibarack <i>Peach</i>	Acephate	0,477	260	3,501	0,92	0,14	0,48	1,09	7,73	1,15
	Dimethoate	0,287	122	2,891	0,79	0,11	0,28	0,58	5,47	1,00
	Methamidophos	0,171	121	3,563	1,01	0,04	0,17	0,53	12,93	1,25
	Carbaryl	0,179	180	4,229	1,25	0,01	0,18	0,49	60,81	1,51
	Carbaryl	0,210	573	4,453	1,43	0,01	0,21	0,62	41,82	1,72
	Methamidophos	0,134	93	4,371	1,26	0,02	0,13	0,42	25,38	1,53
	Phosalone	0,230	99	3,366	0,92	0,07	0,23	0,50	7,05	1,08
Körte <i>Pear</i>	Phosalone	0,265	82	3,603	0,97	0,04	0,27	0,56	14,99	1,16
	Phosalone	0,526	20	2,238	0,62	0,23	0,53	0,90	3,90	0,76
	Carbaryl	0,100	224	3,051	1	0,03	0,10	0,22	8,20	1,22
	Carbaryl	0,020	35	3,430	0,94	0,00	0,02	0,05	10,46	1,11
Szilva <i>Plum</i>	Chlorpyrifos	0,029	42	3,978	1,09	0,01	0,03	0,07	7,88	1,27
	Phosalone	0,247	359	8,551	2,34	0,02	0,24	1,80	80,92	2,71
	Phosalone	0,390	27	3,699	0,96	0,15	0,39	0,98	6,74	1,16
	Acephate	0,131	53	3,016	0,82	0,05	0,13	0,27	5,16	0,98
	Pirimiphos-methyl	0,035	175	5,251	1,36	0,01	0,03	0,11	11,05	1,55
	Fenitrothion	0,029	39	2,750	0,8	0,01	0,03	0,07	5,93	0,99
	Acephate	0,244	93	2,472	0,73	0,09	0,24	0,46	4,88	0,88
	Methamidophos	0,042	92	2,689	0,78	0,02	0,04	0,09	5,21	0,93
Burgonya <i>Potato</i>	Aldicarb	0,085	100	3,909	1,1	0,02	0,09	0,22	12,38	1,27
	Aldicarb	0,050	133	4,369	1,54	0,01	0,05	0,23	22,37	1,83
	Aldicarb	0,027	60	3,936	1,44	0,01	0,03	0,09	14,40	1,71
	Aldicarb	0,038	44	4,205	1	0,01	0,04	0,09	7,06	1,22
	Aldicarb	0,039	35	2,277	0,6	0,02	0,04	0,07	3,29	0,75
	Aldicarb	0,069	121	3,867	1,14	0,02	0,07	0,18	10,09	1,36



Termény Commodity	Pesticide	Elemi minták (Primary samples)				Összetett minták (Composite samples) n= 10				
		Átlag Average	Max/ min	Rel, dif, 95%	CV	Min	Átlag Average	Max	Max/ min	Rel, dif 95%
Burgonya Potato	Aldicarb	0,061	69	3,851	0,99	0,02	0,06	0,14	7,36	1,18
	Aldicarb	0,146	34	2,019	0,66	0,08	0,15	0,29	3,75	0,82
Paradicsom Tomato	Methamidophos	0,061	192	5,118	1,44	0,01	0,06	0,19	17,43	1,68
	Formetanate	0,050	155	4,344	1,4	0,01	0,05	0,21	14,40	1,65
	Acephate	0,087	245	7,045	1,98	0,00	0,09	0,35	99,51	2,39
	Methamidophos	0,040	85	5,938	1,51	0,00	0,04	0,13	30,90	1,86

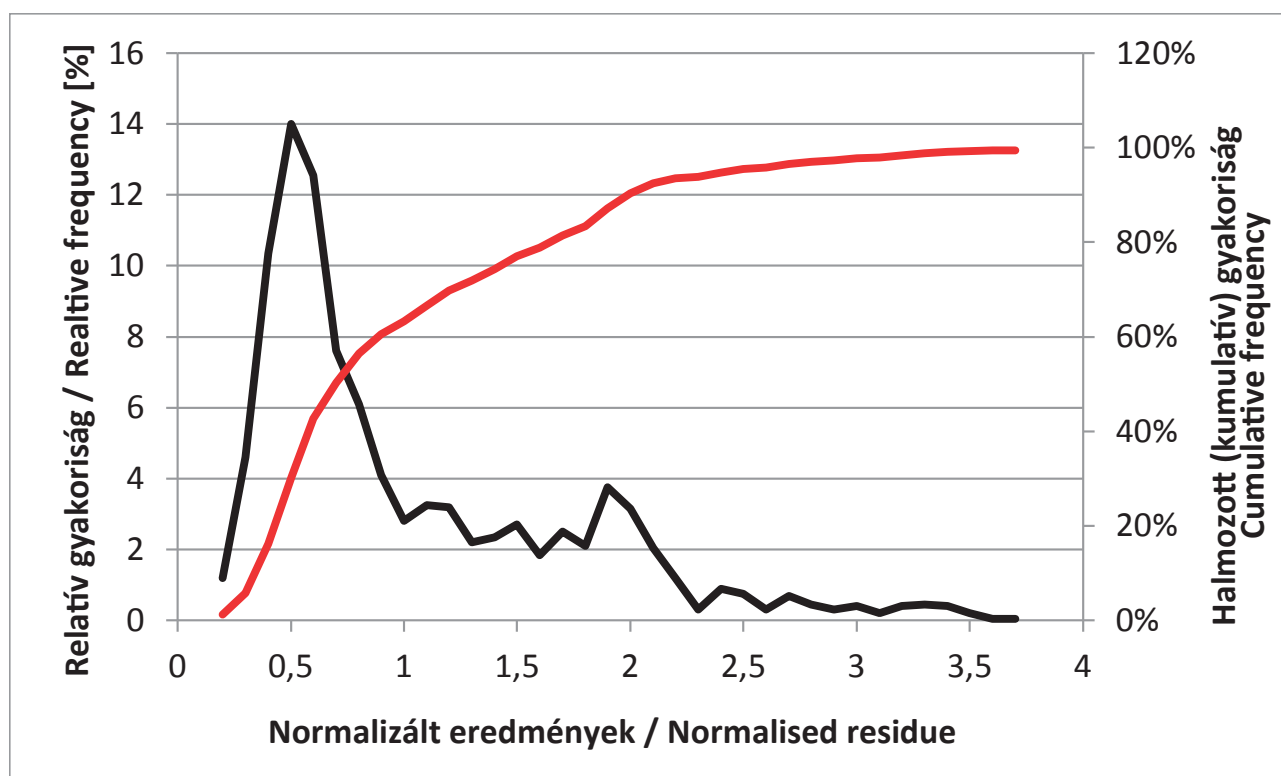
Megjegyzés: A 'Rel.dif95%' a 2.5% és 97.5% percentilisekhez tartozó szermaradék értékeknek az átlagos szermaradékhöz viszonyított százalékos arányát jelzi. Átlag= average

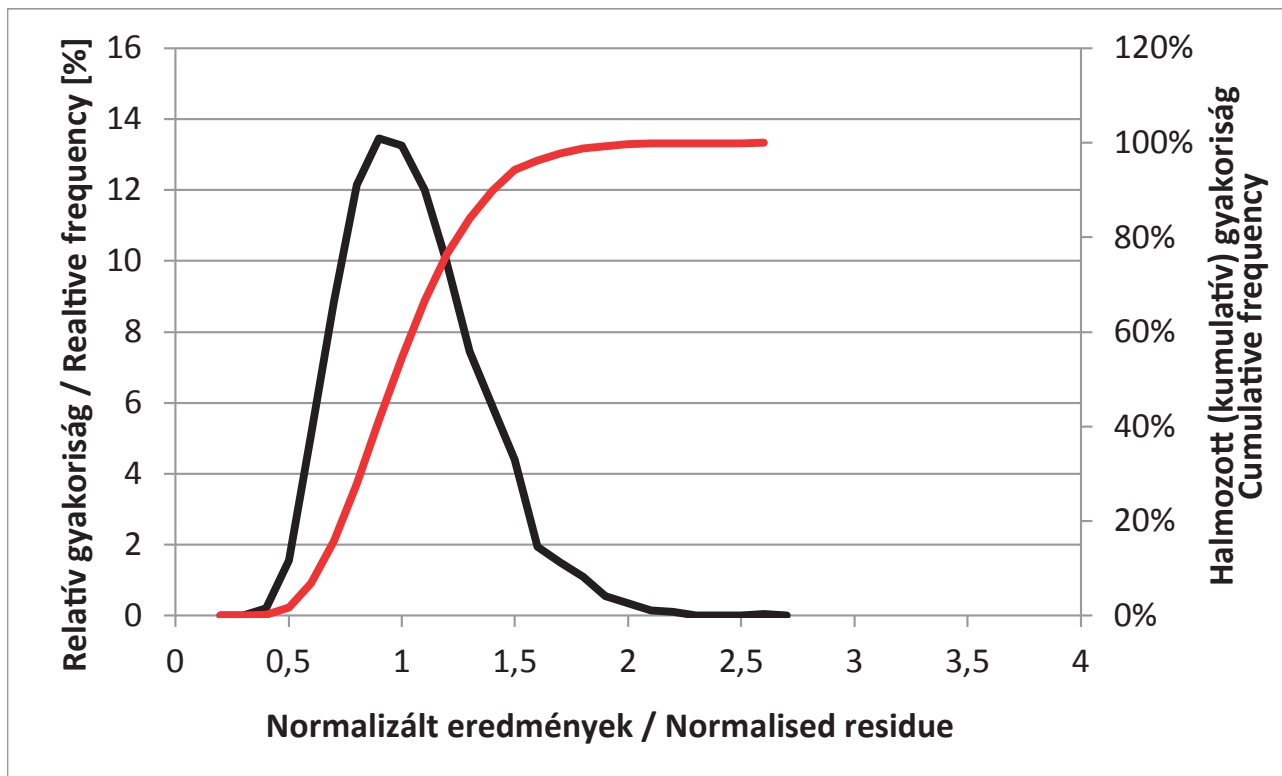
Note: 'Rel.dif95%' means pesticide residue values at 2.5% and 97.5% relative to the average pesticide residue value.

A táblázat adataiból több, a szermaradék eloszlások jellemző tulajdonságainak a megismerését segítő következtetés vonható le.

- Az elemi minták CV értékei a termőterületen gyakorlatilag egyenletesen elhelyezkedő növények (pl. petrezselyem levél, sárgarépa gyökér, fejes káposzta) átlagos CV értéke közelítőleg 0.6. A többi növényi termék CV értéke a 0.8-as CV értékű log-normál eloszlásból generált 100 elemű mintákban tapasztalt 0.53-1.95 minimum - maximum tartományon belül esik.
- A modellvizsgálatokban vártnál magasabb CV értéket a szilva-fozalon és a narancs-malation adathalmazokban tapasztaltunk. A szermaradékok relatív és kumulált gyakorisági eloszlását a **8. és 9. ábrák** mutatják.

A **8. ábrán** a felső diagramon jól látszik, hogy az eloszlás multi-modális, ami arra utal, hogy a mintázott termék több termőhelyről származik. Az alsó ábra egy azonos termőhelyről származó tétel szermaradék eloszlását mutatja. A multi-modális eloszlás, bár nem olyan kifejezetten, mint a szilva esetében, ez esetben is azt jelzi, hogy az egy tételnek feltételezett termék több termőhelyről származik. Ezen eredmények, a **13. ábrán** a pirimifosz-metil szermaradék eloszlását is beleértve, felhívják a figyelmet arra, hogy a potenciálisan kevert tételek vizsgálati eredményeinek értékelésénél különös elővigyázatossággal kell eljárni, mert esetenként magas szermaradék tartalmú minták is előfordulhatnak, amit az ábrán a 3,5 >4 normalizált szermaradék értékek mutatnak.

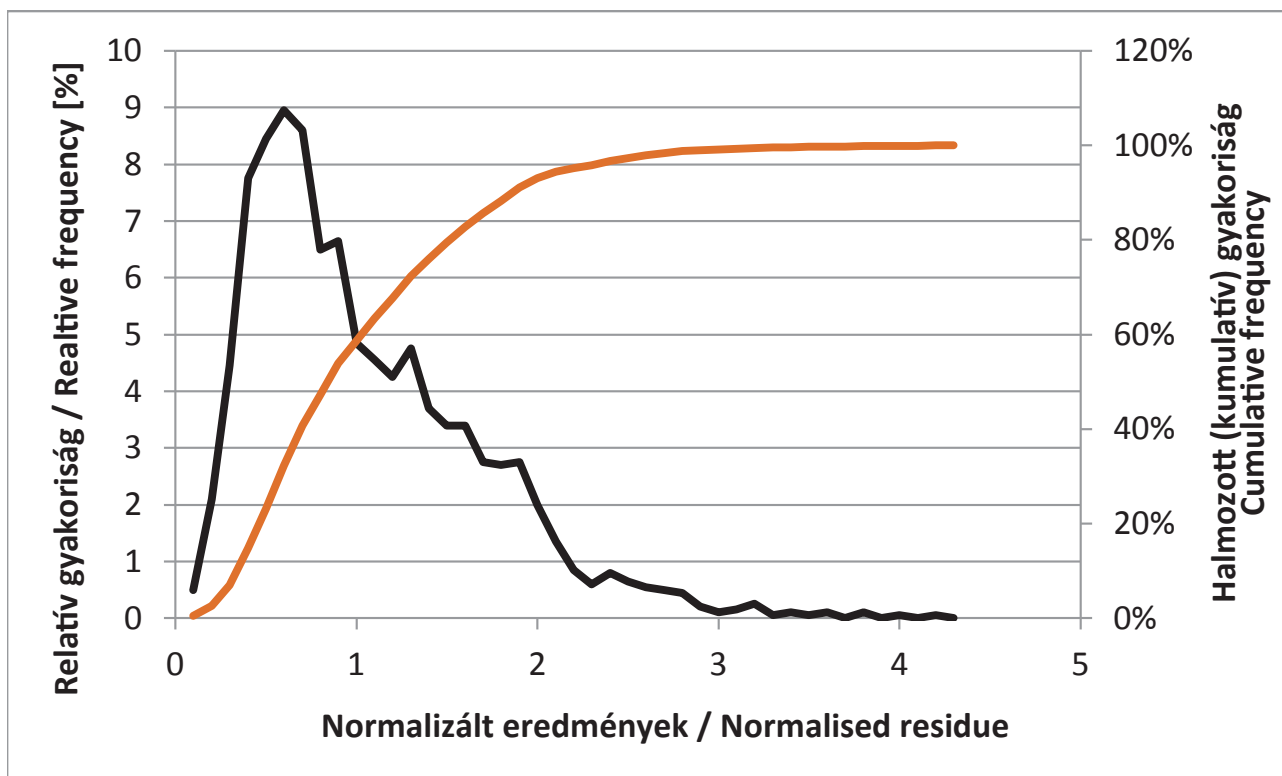




8. ábra. Fozalon szermaradékok eloszlása két független szilva tételben. A felső ábra kevert tételt jelez. Az alsó ábra azonos eredetű termék mintavételi eloszlását mutatja.

Figure 8. Phosalone residue distributions of two independent batches of plums. A mixed batch is indicated by the upper diagram. Sampling distribution of products of the same origin is shown in the lower figure.

A 9. ábra a várt maximálisnál valamivel magasabb maradék eloszlását mutatja. CV értékű narancs szállítmányban a malation szer-



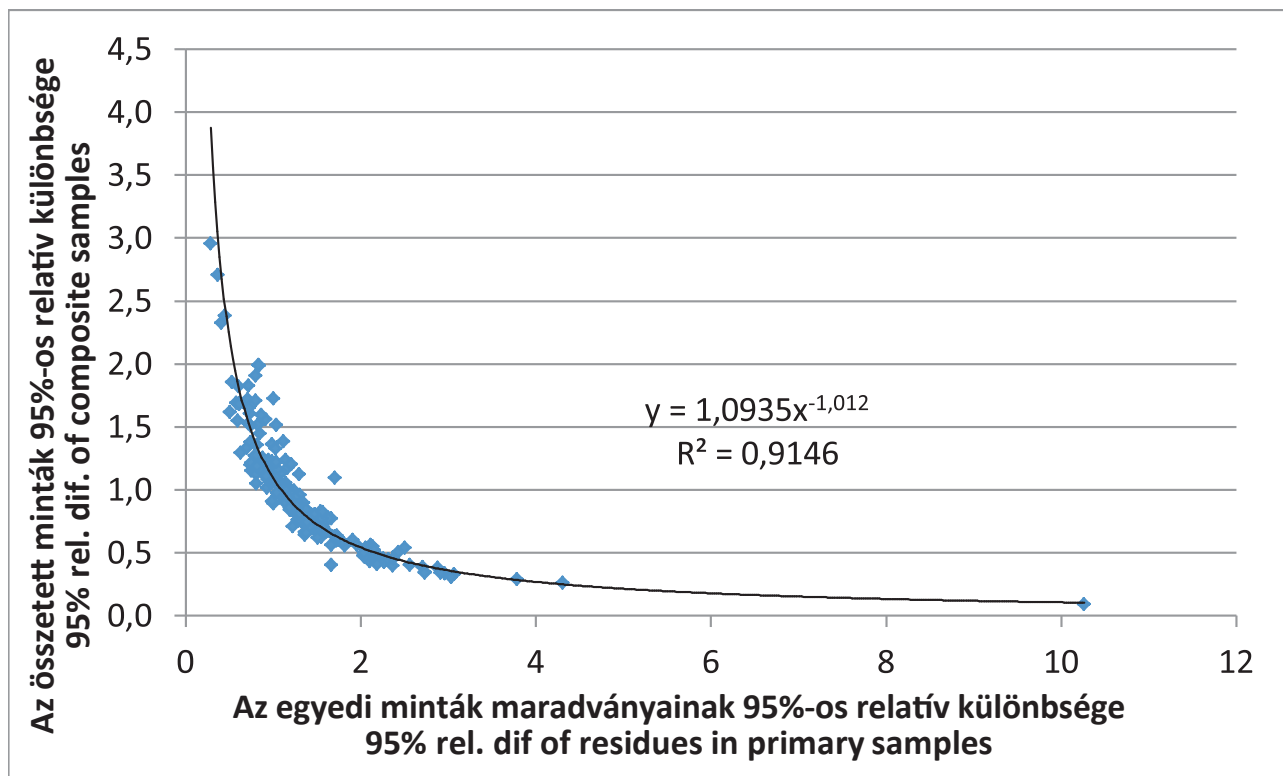
9. ábra. Malation szermaradék-eloszlása egy tételből véletlen mintavétellel kivett 100 narancs gyümölcsben. Megjegyzés: a multi-modális gyakorisági eloszlás különböző kezelésekből származó gyümölcsből, álló tételt jelez

Figure 9. Malathion residue distribution in 100 oranges taken from the same batch by random sampling. Note: A batch consisting of fruits coming from different treatments is indicated by the multi-modal frequency distribution.



- A viszonylag kis elemszámú (100-120) alapsokaságokból véletlen visszahelyezéssel generált összetett minták átlagos szermaradék tartalmának szóródása jól követi a központi határeloszlás tételét (1. egyenlet), melyet a szermaradék eloszlások

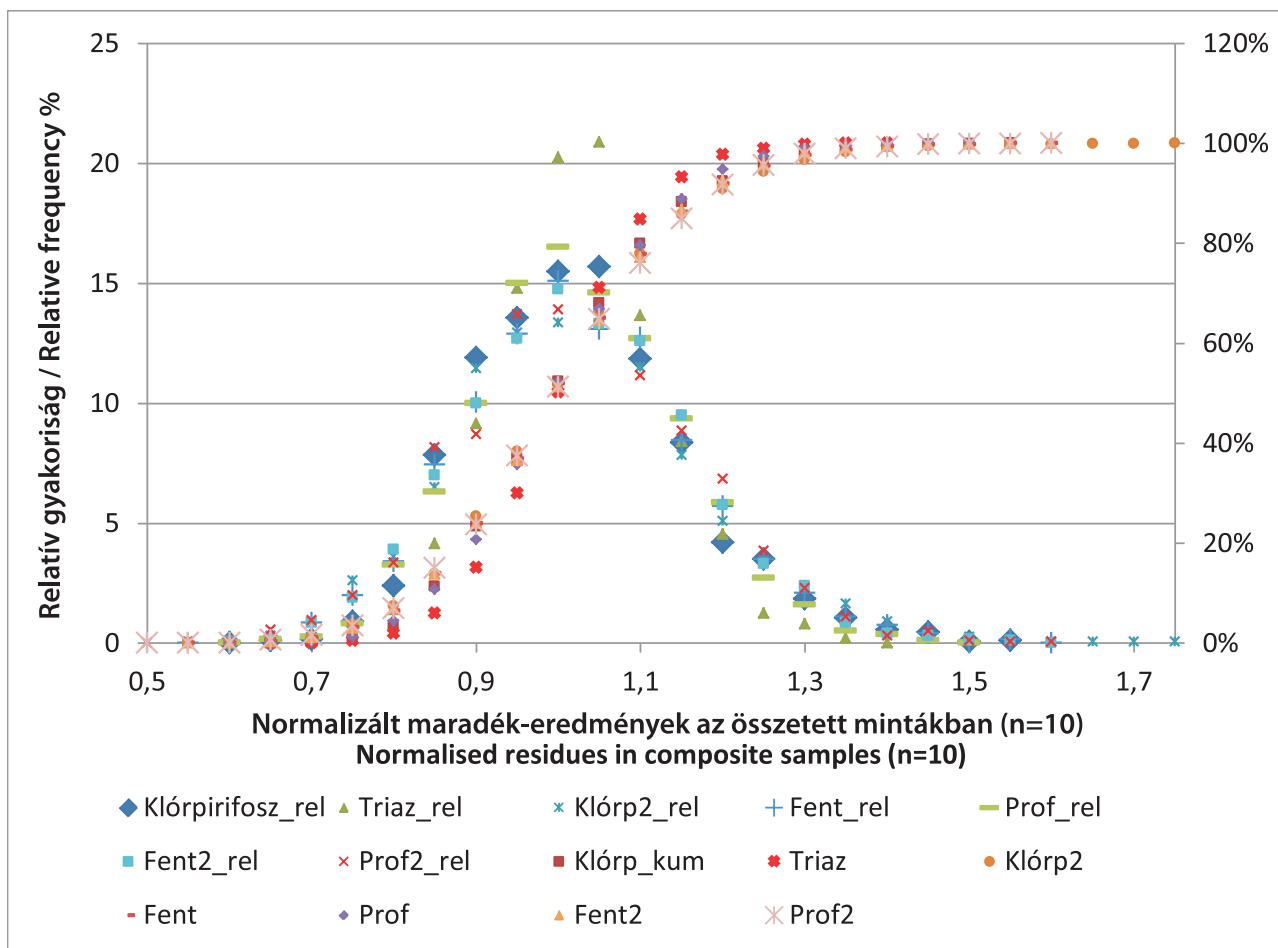
relatív 95%-os koncentrációtartományának a korlátozott elemszámú alapsokaság és a véletlen mintavétel figyelembevételével viszonylag szoros korrelációja mutat (10. ábra).



10. ábra. A 10 elemszámú összetett és a 100-120 elemszámú elemi minták szermaradék -koncentrációja relatív 95%os tartományának összefüggése.

Figure 10. Correlation between the 95% relative pesticide residue concentration ranges of composite samples of 10 primary samples and primary samples of 100 to 120 elements.

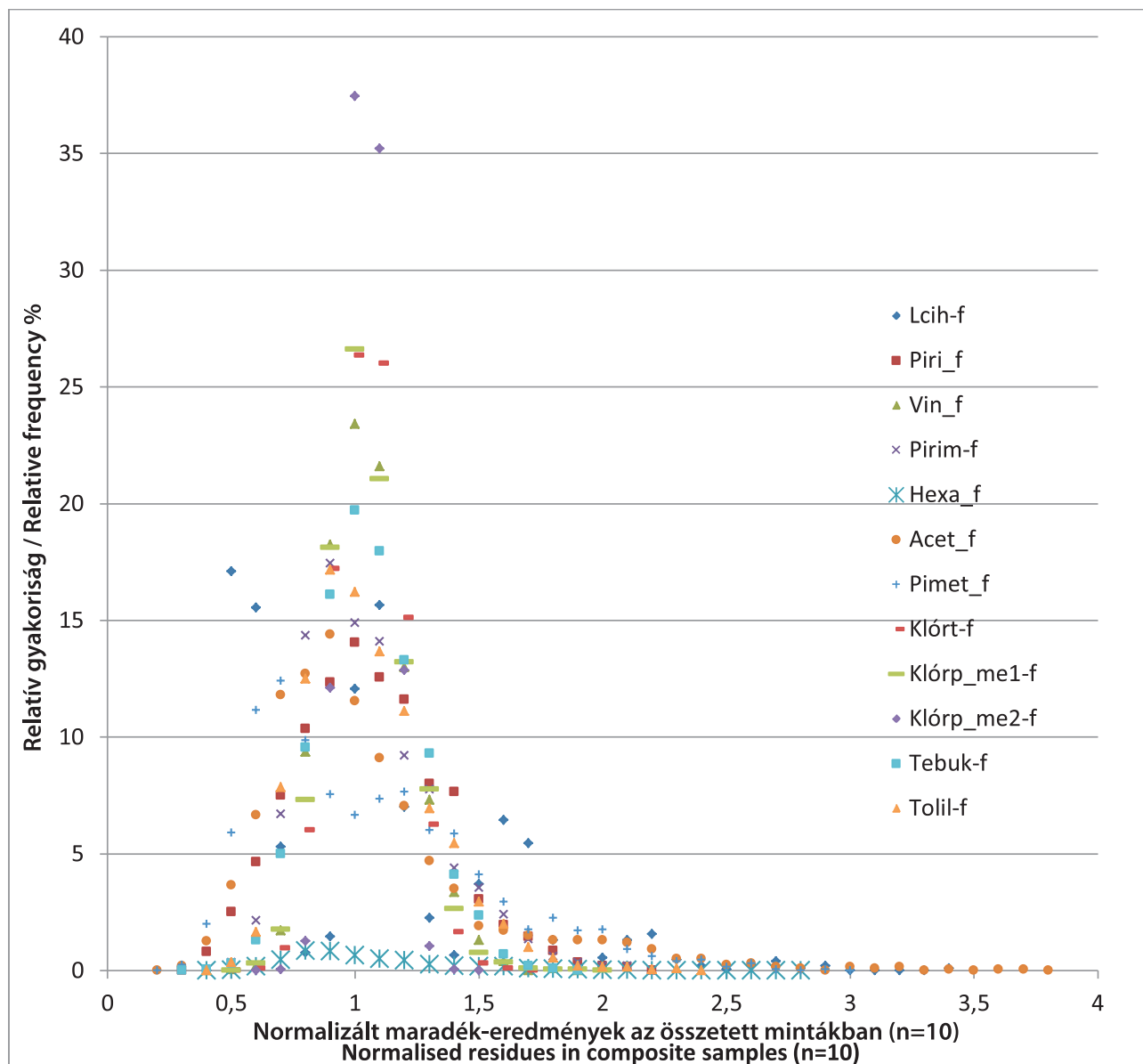




11. ábra. Különböző fejes káposzta termőterületeken függetlenül végzett növényvédő szeres kezelésekből származó növényvédőszer-maradékok eloszlása 10 elemű összetett mintákban. A szermaradékok jelölése: relatív gyakorisági eloszlások: Fent\_rel: fentoát1; fent2-rel: fentoáttal kezelt táblák; Klórp2: klórpírifosz 2. tábla; Prof\_rel: profenfosz; Prof2\_rel: profenfosz 2. tábla. Triaz\_rel: triazofosz; A kumulált gyakoriságot hasonló rövidítések jelzik.

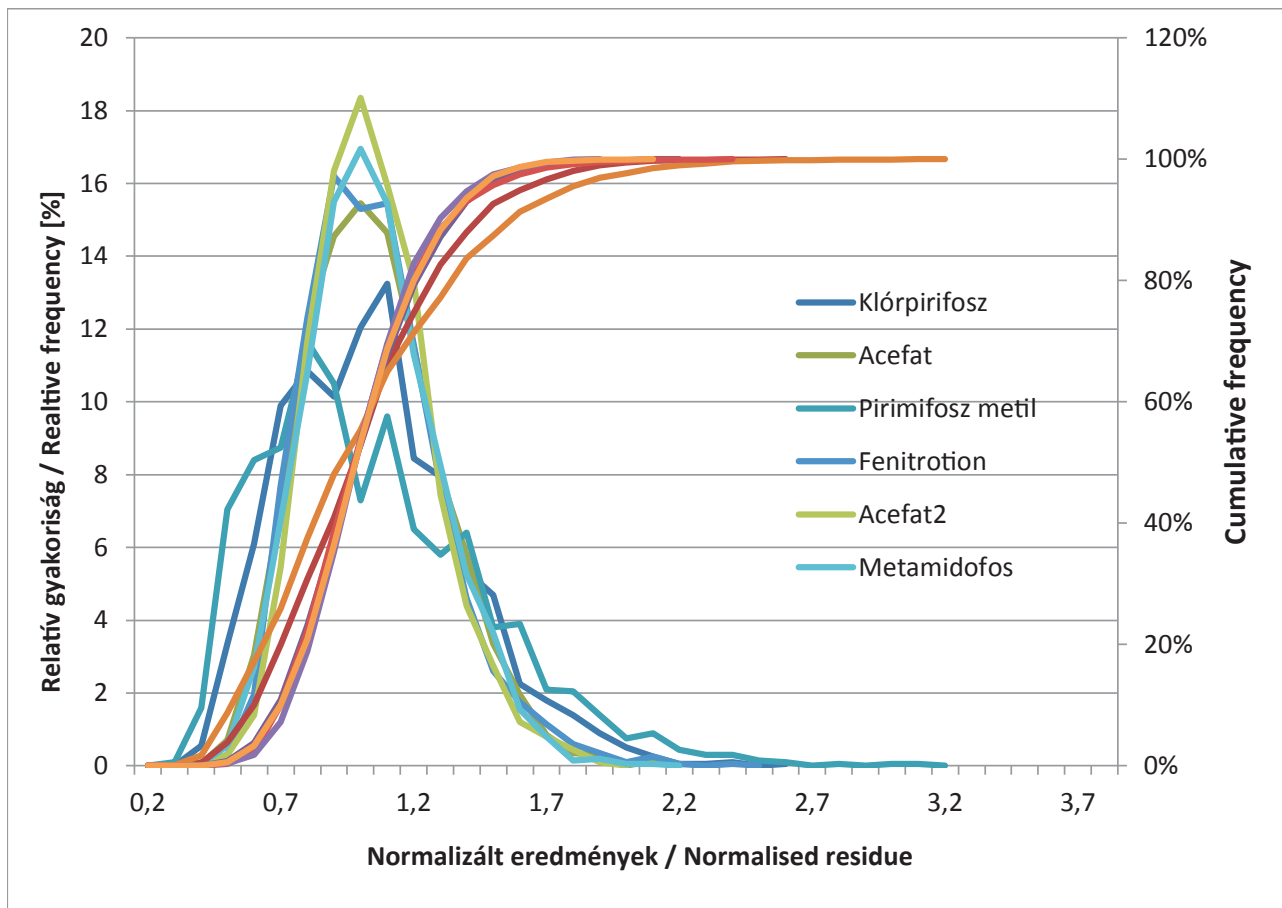
Figure 11. Pesticide residue distributions in composite samples of 10 primary samples coming from independent pesticide treatments of cabbage in different growing areas. Pesticide abbreviations: Fent\_rel: phenthoate1; fent2-rel: phenthoate, lot 2; Klórp2: chlorpyrifos, lot 2; Prof\_rel: profenofos; Prof2\_rel: profenofos, lot 2; Triaz\_rel: triazofos. Cumulative frequencies are abbreviated similarly.





12. ábra. Különböző uborka termőterületeken függetlenül végzett növényvédőszeres kezelésekből származó növényvédőszer-maradékok eloszlása 10 elemű összetett mintákban. Jelölések: Acet: acetamiprid; Hexa: hexakonazol; Klórt: klórtalonil; Lcih: lambda cihalotrin; Pimet: pimetozin; Piri: pirimifosz-metil; Klórp-me: klórpifosz-metil; Tebuk: tebu- konazol; Tolil-f: toliifluanid; Vin: vinklozolin;

Figure 12. Pesticide residue distributions in composite samples of 10 primary samples coming from independent pesticide treatments of cucumber in different growing areas. Legend: Acet: acetamiprid; Hexa: hexaconazole; Klórt: chlo- rothalonil; Lcih: lambda-cyhalothrin; Pimet: pymetrozine; Piri: pirimiphos-methyl; Klórp-me: chlorpyrifos-methyl; Tebuk: tebuconazole; Tolil-f: tolylfluanid; Vin: vinclozolin.

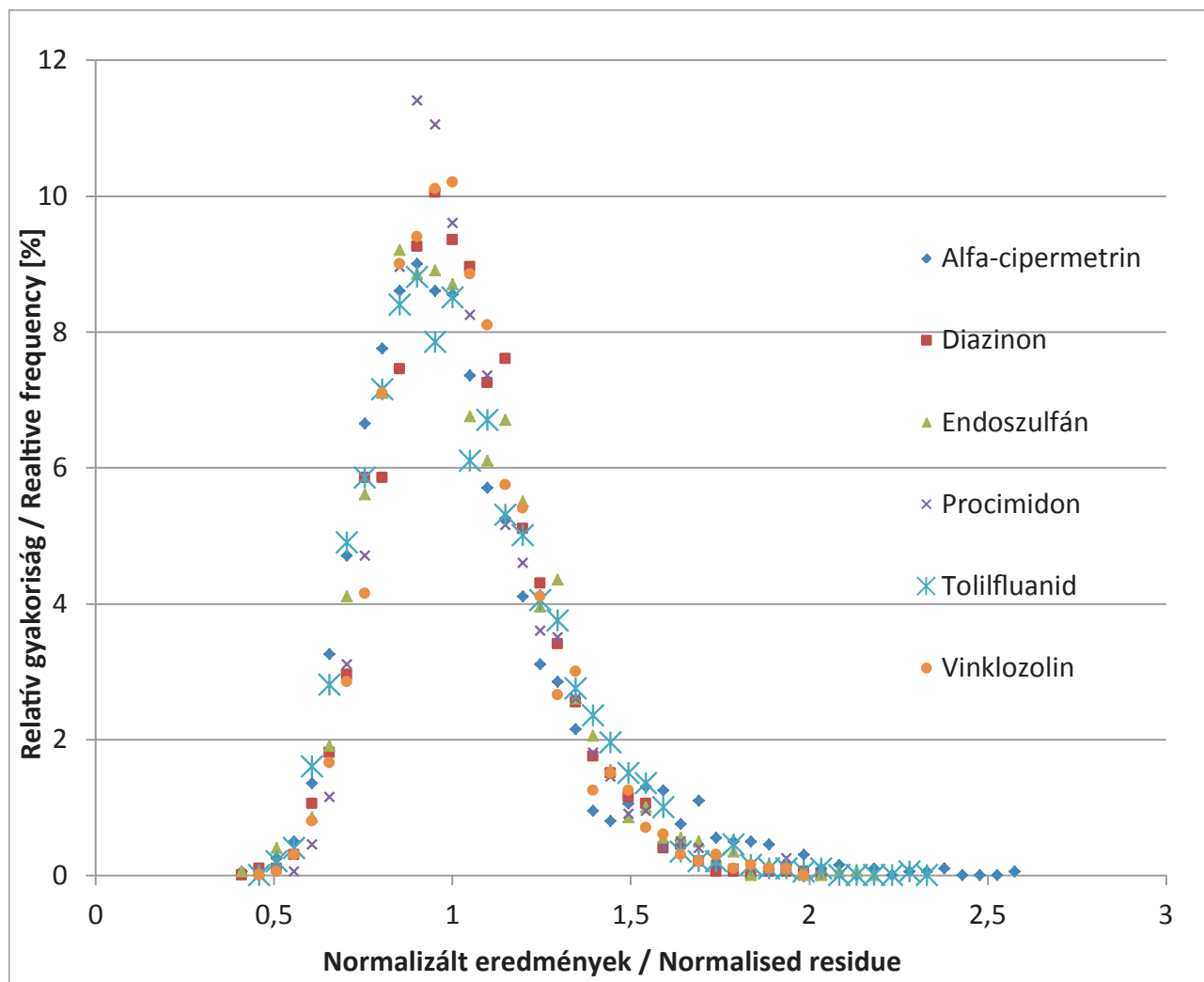


13. ábra. Különböző szilva gyümölcsösökben függetlenül végzett növényvédőszeres kezelésekből származó növényvédőszer-maradék eloszlása 10 elemű összetett mintákban. Megjegyzés: A pirimifosz-metil és fenitrotion szer-maradék eloszlás nagy valószínűséggel kevert tételt jelez.

Figure 13. Pesticide residue distributions in composite samples of 10 primary samples coming from independent pesticide treatments of different plum orchards. Note: A high probability of mixed batches are indicated by the pirimiphos-methyl and fenitrothion residue distributions.





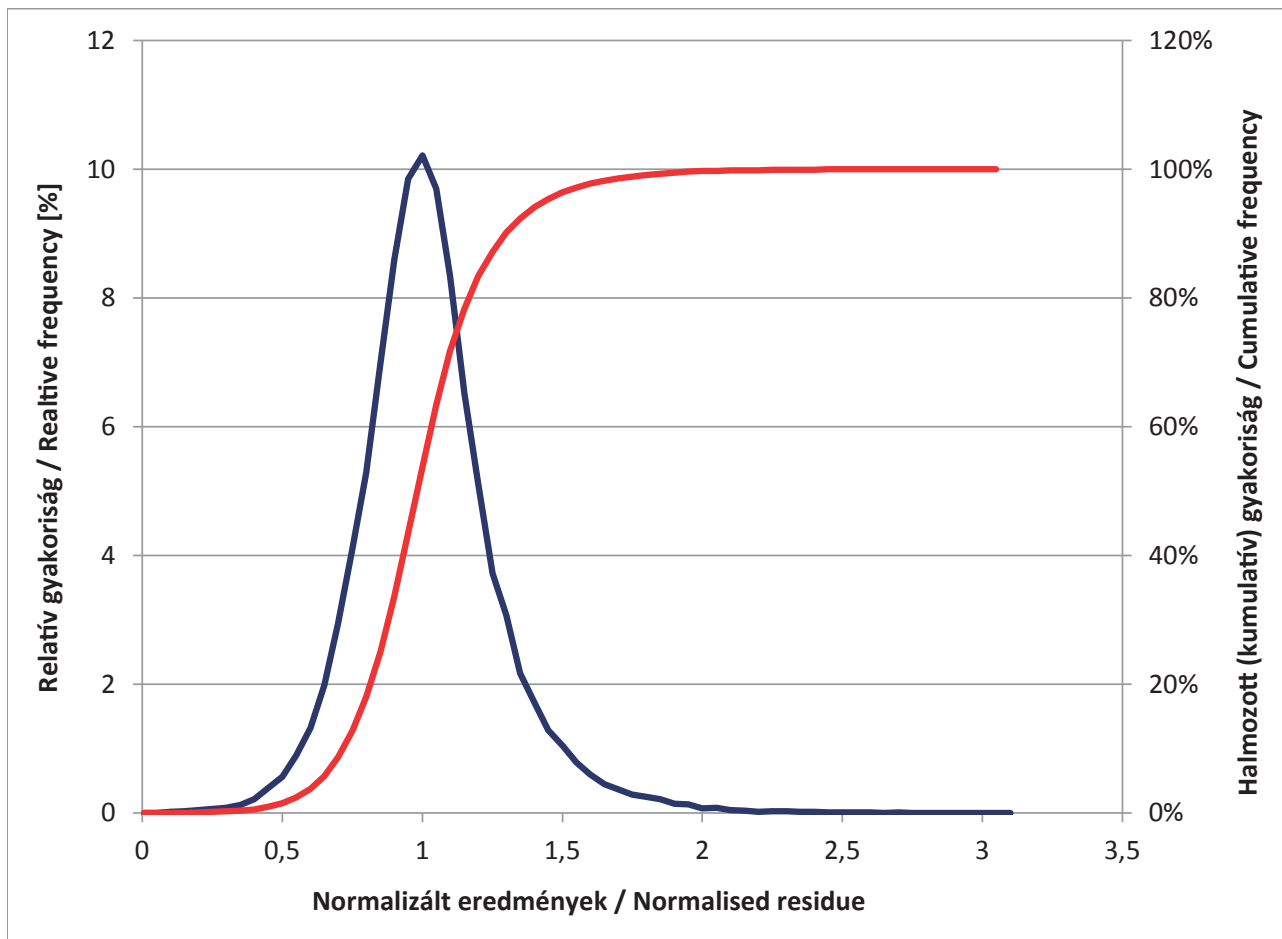


14. ábra. Különböző szatócaültvényekben függetlenül végzett növényvédő szeres kezelésekből származó növényvédőszer-maradék eloszlása 10 elemű összetett mintákban.

Figure 14. Pesticide residue distributions in composite samples of 10 primary samples coming from independent pesticide treatments of different strawberry fields.

Egy adott termék független tételeiben a különböző növényvédő szeres kezelésekből származó szermaradék eloszlás nagyon hasonló profilt mutat (11-14 ábrák), mely lehetővé teszi a tipikus mintavételi bizonytalanság megállapítását egy-egy termék esetén.





15. ábra. Az átlagos szermaradék eloszlása 93 független termék növényvédőszer-maradék adathalmazból vett 2000-2000 tíz elemi mintában: alma (34), fejes káposzta (14), szamóca (18), szilva (13) és uborka (14). A tételek átlagos szermaradéka 0.003 mg/kg és 3.32 mg/kg között változott.

Figure 15. Average pesticide residue distribution of 2000-2000 samples of 10 primary samples taken from 93 independent pesticide residue data populations each: apples (34), cabbages (14), strawberries (18), plums (13) and cucumbers (14). Average pesticide residue of the batches ranged from 0.003 mg/kg to 3.32 mg/kg.

A 15. ábrán 5 különböző habitusú növény terméséből 93 független növényvédő szeres kezelését követően vett elemi mintáiból generált 10 elemű összetett minták normalizált eloszlását mutatjuk be. A szermaradékok relatív gyakoriságának teljesen szabályos eloszlása jelzi, hogy nincs a gyakorlatban érzékelhető különbség az egyes terményekből származó minták normalizált szermaradék eloszlásában, ami lehetővé teszi a különböző terményekben kapott kísérleti eredmények alapján a termékcsoportokra tipikus mintavételi bizonytalanságok becslését.

### 5. A mintavétel véletlen hibájának becslése

A mintavétel bizonytalanságának megállapítására a legszélesebb körű adatbázist a FAO/WHO JMPR által közzétett kísérletek során végzett duplikált mintavétel eredményei biztosították. A szerkísérleteket viszonylag kis parcellákon nagyon gondosan ellenőrzött körülmények között hajtják végre [22]. Tekintve, hogy a cél a kezelt területen maradó átlagos szermaradék lehető legpontosabb meghatározása, a szerkísérleti minták általában a szabvány mintavételi eljárásoknál lényegesen nagyobb számú elemi mintát (terméktől függően 12-24) tartalmaznak. A duplikált mintákból a 2.2.1 részben ismertetett B módszer szerint számított mintavételi bizonytalanságok az optimális esetet reprezentálják.

Tekintve, hogy a forgalomba kerülő termények szermaradék tartalmának megítélésénél az alábecsült mintavételi bizonytalansággal számolt termék-megfelelőség súlyos következményekkel járhat, a bevezetőben tárgyalt üzemi körülmények között előforduló lényegesen nagyobb szermaradék inhomogenitásból származó mintavételi bizonytalansággal célszerű számolni. A forgalomba kerülés előtt a növényi termékek ellenőrzésére javasolt mintavételi bizonytalanságokat a Codex termékcsoportosítási kategóriáknak megfelelő termékcsopontonként az 5. táblázat tartalmazza. A részletes eredmények és megfontolások Farkas és munkatársai közleményében [23] található. Abban az esetben, ha nem zárható ki az, hogy a mintázott tétel több termőterületről származó növényi termékeket tartalmaz, a táblázatban közölt mintavételi bizonytalanságokat még egy 1.4-es tapasztalati faktorról [1] javasoljuk megszorozni. A kis elemszámú mintából becsült  $CV_{s1}$  értékek a vártnál sokkal magasabbak, mely részben a kisszámú adatnak tulajdonítható. Ezért a táblázatban a vonal alatt szereplő értékeket fenntartással kell kezelni és, ha rendelkezésre állnak, további adatokkal finomítani kell azokat.

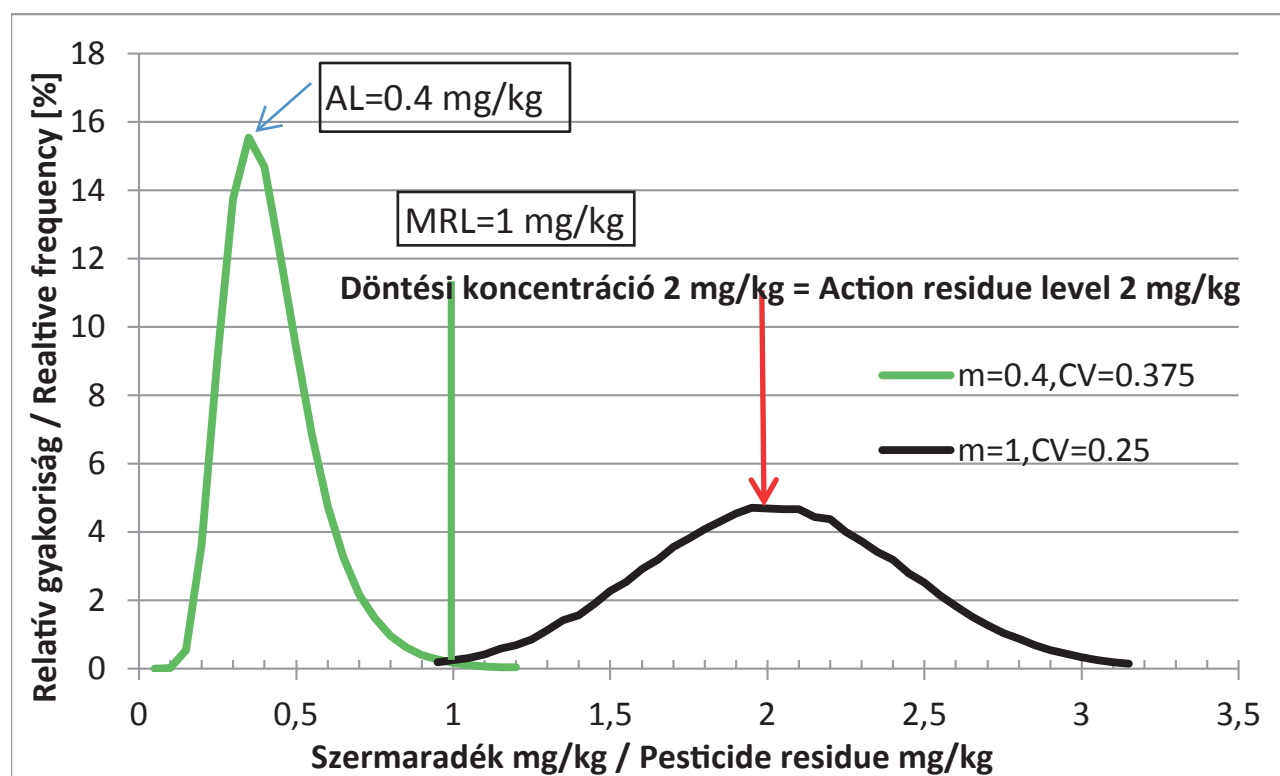


## 6. A termékek megfelelőségének a piacra kerülést megelőző ellenőrzése

A 178/2002 (EC) rendelet a forgalmazót teszi felelősé azért, hogy a forgalomba hozott termékek megfelelnek a vonatkozó minőségi és egyéb élelmiszerbiztonsági előírásoknak [24]. A vonatkozó növényvédőszer-maradék határérték előírások a szabvány szerint [3, 4] vett minta átlagos szermaradék tartalmára vonatkoznak, ami azt jelenti például, hogy minden 10 db alma vagy egy kg paradicsom átlagos szermaradék tartalma  $\leq$  MRL kell, hogy legyen. Ha a mintában mért szermaradékot a határértékhez hasonlítjuk, akkor az esetek közel 60%-ban (7. ábra) előfordulhat, hogy a későbbi ismételt mintavétel esetén a határértéknél magasabb szermaradékot mérnek. Ezért, ha biztosak akarunk lenni abban, hogy a termékünk megfelel az esetek döntő többségében (pl. 95% vagy 98%-ban) a határérték előírásoknak, akkor a határértéknél

alacsonyabb szintet kell meghatározni, amelyet nem haladhat meg a véletlen mintavétellel vett mintákban mért szermaradék-koncentráció. Magasabb szermaradékot tartalmazó minta esetén esetleg ismételt mintavétellel győződhünk meg a termékünk megfelelőségéről. A kiválasztott valószínűségi szintű megfelelőséget biztosító szermaradék koncentrációt cselekvési szintnek (action limit, AL) nevezzük.

A hatósági ellenőrzés során sem a határértékhez közvetlenül hasonlítják a mintában mért értéket, hanem a mérési bizonytalanság figyelembevételével meghatározott döntési szinthez. Az Európai Unióban a laboratóriumi mérések kombinált kiterjesztett bizonytalanságát egységesen 50%-ban határozták meg [25]. Ennek megfelelően, ha a határérték 1 mg/kg, a tételt a laboratórium akkor minősítheti nem megfelelőnek, ha a mért szermaradék  $\geq$  2 mg/kg. A viszonyokat a 16. ábra szemlélteti.



16. ábra. A szermaradék eloszlása 10 elemű összetett mintában a termék forgalmazás előtti és a piaci hatósági ellenőrzés során. Döntési konc = decision limit; m = átlagos szermaradék, mean residue

Figure 16. Pesticide residue distributions in composite samples of 10 primary samples before distribution and during market inspection by the authorities. Döntési konc = decision limit; m = mean residue.

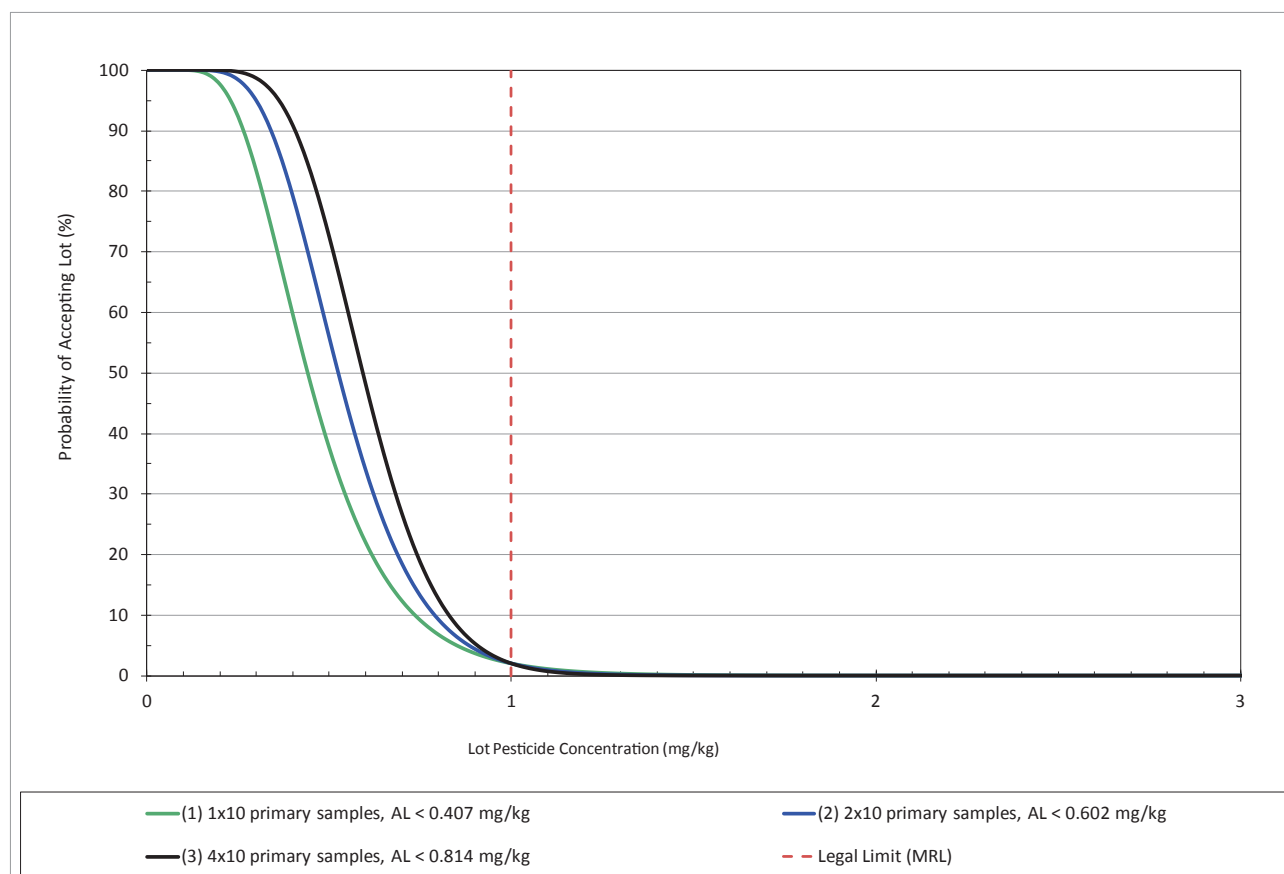
A cselekvési szint meghatározásának megkönnyítésére, a legjobb illesztést adó log-normál szermaradék eloszlást feltételezve, Whitaker és munkatársai által közzétett eljárás [26] továbbfejlesztésével kidolgoztunk egy Excel programot melynek input paramétereit és a feltüntetett paramétereknek megfelelő outputot a 17. ábra mutatja. Az ábrán kékes-zölddel jelzett cellákba írhatja be a felhasználó a kívánt paramétereket: a vizsgált párhuzamos laboratóriumi minták számát; a mintában lévő elemi minták számát; a laboratóriumon belüli reprodukálhatósági körülményekre jellemző kombinált bizonytalanság értékét,  $CV_L$ ; a párhuzamosan vizsgált analitikai minták szá-

mát, valamint a forgalmazó által megcélzott elfogadható nem megfelelőségi szintet ( $\beta_v=0.02=1-\beta_p$ ). A felső ábrán láthatjuk, hogy az input paramétereknek megfelelő vizsgálati körülmények között a 98%-os megfelelőség eléréséhez egy, két és négy párhuzamos véletlen minta vizsgálatakor a mért értékek egyike sem haladhatja meg, rendre, a 0,41; 0,6 és 0,81 mg/kg értéket.

Az Excel munkalap alkalmazható arra is, hogy kiszámoljuk, a mintákban konkrétan mért szermaradékok esetén mi a valószínűsége a mintázott tétel megfelelőségének.

	Curve #1	Curve #2	Curve #3
Number of Laboratory Samples	1	2	4
Number of primary samples	10	10	10
CVL	0.16	0.16	0.16
CVSAM	0.383	0.383	0.383
Number of test portion analysed	1	1	1
Accept Limit<= (mg/kg) Forced			
Accept Limit<= (mg/kg) Calc.	0.4073	0.6019	0.8143
Accept Limit<= (mg/kg) Implemented	0.4073	0.6019	0.8143
$\beta_v$ at MRL Calc.	0.020	0.020	0.020
Targeted $\beta_v$ at MRL	0.020	0.020	0.020
MRL =	1	Medium sized vegetable	CV1= 1.211
X max =	3		

17/a. ábra. Az Excel-ben programozott számológépek képe. / Figure 17/a. Picture of programmed Excel calculator.



17/b. ábra. Az Excel makró input és output paraméterei. Az adott körülmények között 1, 2 és 4 párhuzamos minta egyike sem tartalmazhat 0,41, 0,60 és 0,81 mg/kg feletti szermaradék értéket.

Figure 17/b. Input and output parameters of the Excel macro. Under the given conditions, none of the 1, 2 or 4 replicates can contain pesticide residues in excess of 0.41, 0.60 and 0.81 mg/kg, respectively.

Tételezzük fel, hogy a határérték 1 mg/kg és három különböző tételből vett mintákban a következő szermaradék értékeket mérjük:

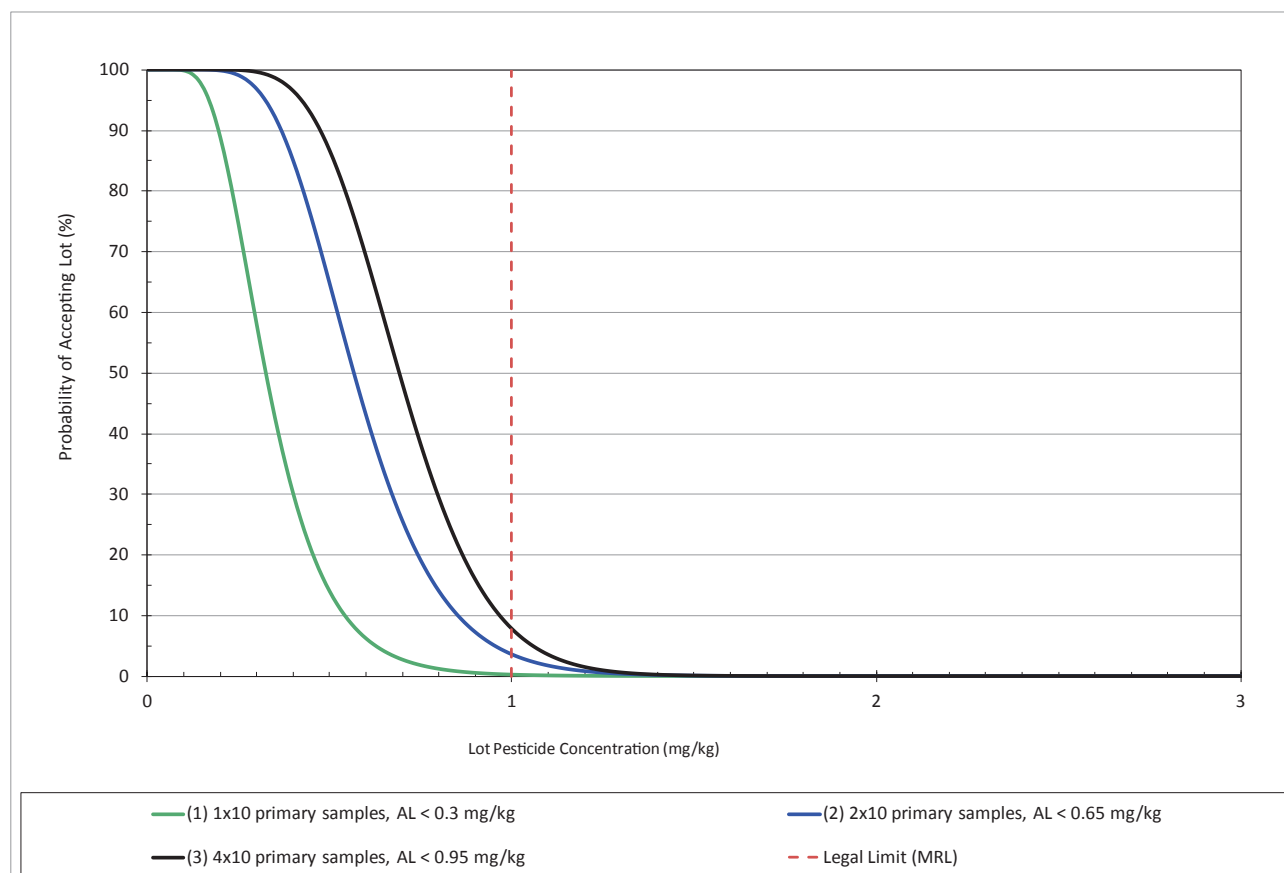
Tétel	Párhuzamos minták száma	Mért szermaradék értékek			
1	1	0.3			
2	2	0.65	0.3		
3	4	0.95	0.65	0.45	0.3

A párhuzamos mintákban maximálisan mért szermaradék értékeket beírjuk az elhatározott cselekvési szint (Accept Limit<= (mg/kg) Forced) értékek sorába. Ekkor a **18. ábrán** a számított valószínűség sorában (Accept Probability at MRL Calc.) látható értékeket kapjuk: az 1. tétel 99.8%-os valószínűséggel

meg fog felelni a határérték előírásnak ( $\beta_v = 0.002 = 1 - 0.998$ ). A 2. és 3. tételek megfelelési valószínűsége 96.4% és 92.2%. A viszonyokat a grafikus ábra is jól szemlélteti. A termelő felelőssége (kockázata), hogy az előbbi megfelelési szintnek megfelelő tételeket forgalomba hozza-e vagy nem.

	Curve #1	Curve #2	Curve #3
Number of Laboratory Samples	1	2	4
Number of primary samples	10	10	10
CVSPA	0.16	0.16	0.16
CVSAM	0.383	0.383	0.383
Number of test portion analysed	1	1	1
Accept Limit<= (mg/kg) Forced	0.300	0.650	0.950
Accept Limit<= (mg/kg) Calc.			
Accept Limit<= (mg/kg) Implemented	0.3000	0.6500	0.9500
Accept Probability at MRL Calc.	0.002	0.036	0.078
Accept Probability at MRL Desired	0.020	0.020	0.020

18/a. ábra. Az Excel-ben programozott számológépek képe. / Figure 18/a. Picture of programmed Excel calculator.



18. ábra. A mért szermaradék koncentrációkat tartalmazó tételek várható megfelelési valószínűsége.

Figure 18. Expected probabilities of acceptance of lots containing the pesticide amounts measured.



## 7. Összefoglalás, javaslatok

A növényvédőszer-maradék szintek a kezelt területekről származó termésekben (pl. egy almában vagy egy fej káposztában) tág határok között változnak, mely a vonatkozó előírások szerint szabályosan ismételt vett, 5-10 elemi mintából álló, összetett minták eltérő szermaradék tartalmában nyilvánul meg. Egy minta vizsgálati eredménye csak egy becslést ad a tétel várható szermaradék tartalmára. Tekintve, hogy az engedélyezett növényvédőszer-maradék határértékek a növényi terményekből a szabályosan vett összetett minták átlagos szermaradék tartalmára vonatkoznak, elméletileg a forgalmazandó termékek minden egyes összetett mintának megfelelő tömegű és darabszámú egységének meg kell felelni a határérték előírásoknak. A forgalmazó felelőssége hogy csak a vonatkozó előírásoknak megfelelő terméket hozzon forgalomba.

A mintavétel bizonytalansága (az ismételt mintavétellel kapott eredmények variabilitása) a mintában lévő elemi minták számától és a minta tömegétől függ. Ezért a termékek előzetes ellenőrzése során fokozott figyelmet kell fordítani arra, hogy a minták vételére az előírások figyelembevételével kerüljön sor és a minta minimális elemszáma illetve tömege megfeleljen a vonatkozó hivatalos eljárásnak [3, 4], egyébként az eredményből semmiféle reális következtetést nem lehet levonni.

A forgalmazónak el kell döntenie, hogy a terméke minimálisan hány százalékban feleljen meg a jogi (vagy megrendelői specifikus) előírásoknak vagyis milyen kockázatot vállal arra az esetre, hogy a terméket a megrendelői, illetve a hatósági ellenőrzés során nem megfelelőnek minősítik. A célzott megfeleléségi százalék valamint a mintavételi és vizsgálati költségek ismeretében lehet a mintavételi tervet és a termékből vett mintá(k)ban maximálisan előfordulható növényvédőszer-maradék koncentrációt (cselekvési szintet) meghatározni.

Első közelítésben, átlagos jó laboratóriumi vizsgálati gyakorlat és 0.01 mg/kg feletti szermaradékot tartalmazó, azonos termőhelyről származó tételek esetén egy, két és négy párhuzamos minta egy ismétlésben történő vizsgálata során akkor várhatjuk, hogy a mintázott tétel szermaradék tartalma az esetek 98%-ban 95%-os valószínűséggel megfelel az engedélyezett határértéknek, ha a mintá(k)ban mért maximális szermaradék koncentráció  $\leq 0.4\text{MRL}$ ,  $0.6\text{MRL}$  és  $0.8\text{MRL}$  értékeknél.

A szerzők által kidolgozott program segítségével a cselekvési szint illetve egy mért szermaradék koncentráció esetén várható megfeleléségi szint a vizsgálati körülményeknek megfelelően egyszerűen meghatározható.

### Köszönetnyilvánítás

A közleményben szereplő eredmények részben az EU 7. kutatási keretprogramja keretében (BASELINE Grant Agreement no. 222738) végzett kutatásokon alapulnak. A szerzők köszönetüket fejezik ki Whitaker professzornak és Dr. Slatenek a makró kifejlesztéséhez nyújtott segítségükért, Dr. Ganzelmeir úrnak a rendelkezésünkre bocsájtott felvételekért, a Wessling Nonporfit Kft-nek az eredmények gyakorlati alkalmazásáért és széleskörű bemutatásának támogatásáért.

## Irodalom

- [1] Horváth, Zs., Árpád Ambrus, Á., Mészáros, L., Simone Braun S. (2013): Characterization of distribution of pesticide residues in crop units, *J. Environ. Sci. and Health, Part B*, 48, 615-625.
- [2] Ambrus, A.(1979): The Influence of Sampling Methods and other Field Techniques on the Results of Residue Analysis, in Frehse H., Geissbühler H.,(eds) *Pesticide Residues*, pp. 6 -18, Pergamon Press.
- [3] Codex Secretariat, (2002) Recommended method of sampling for the determination of pesticide residues for compliance with MRLs, [www.codexalimentarius.org/input/download/standards/361/CXG\\_033e.pdf](http://www.codexalimentarius.org/input/download/standards/361/CXG_033e.pdf)
- [4] COMMISSION DIRECTIVE 2002/63/EC of 11 July 2002 establishing Community methods of sampling for the official control of pesticide residues in and on products of plant and animal origin and repealing Directive 79/700/EEC, *Official Journal of the European Communities*, 187, 30-43.
- [5] Ambrus A.(2004): Reliability of measurement of pesticide residues in food, *Accred. Qual. Assur.* 9: 288-304.
- [6] Suszter, G., Ambrus, A., Schweikert-Turcu, M., and Klaus P.M. (2006) Estimation of efficiency of processing soil samples, *J. Environ. Sci and Health Part B*. 41, 1-22.
- [7] MSZ EN ISO/IEC 17025:2005, (2006): Vizsgáló- és kalibrálólaboratóriumok felkészültségének általános követelményei.
- [8] International Standard Organization, (1991): *Shewhart Control Charts* 8258, December 1, 1991.
- [9] Gy, M. (1982): *Sampling of Particular Materials: Theory and Practice*, Elsevier, Amsterdam.
- [10] Ambrus, Á., Andrea Zentai, A., Sali, J., Ficzere I. (2011): Hidden contributors to uncertainty and accuracy of results of residue analysis, *Accred. Qual. Assu.r* 16, 3-11.
- [11] Ambrus Á, Soboleva E. (2004): Contribution of sampling to the variability of pesticide residue data, *JAOAC International*, 87, 1368-1379.
- [12] Ramsey, M., H. and Ellison, S. L. R. (eds.) (2007): *Eurachem/EUROLAB/CITAC/Nordtest/AMC Guide: Measurement uncertainty arising from sampling: a guide to methods and approaches Eurachem*. ISBN 978 0 948926 26 6
- [13] Farkas, Zs., Horváth, Zs., Kerekes, K., Ambrus, Á., Hámos A., Szeitzné Szabó, M. (2014): Estimation of sampling uncertainty for pesticide residues in root vegetable crops. *J. Environ. Sci and Health, Part B*, 49, 1, 1-14.
- [14] Food and Agriculture Organisation. (2008-2011), *Pesticide residues in food 2007-2010 Evaluations Part I – Residues*, FAO Plant Production and Protection Paper series, Nos: 189/1, 189/2, 192, 193, 198, <http://www.fao.org/agriculture/crops/core-themes/theme/pests/jmpr/jmpr-rep/en/>

- [15] Yolci Omeroglu, P., Ambrus, Á., Boyacioglu D., Solymosné Majzik, E. (2013): Uncertainty of the sample size reduction step in pesticide residue analysis of large-sized crops, *Food Additives & Contaminants: Part A* (30 (1): 116-126.
- [16] *International Standard Organisation, Statistical Aspects of sampling from bulk materials – Part 1 General principles ISO 11648-1, 2003*
- [17] Ambrus Á, Solymosné Majzik, E., Korsós I. (1996): Estimation of Uncertainty of Sample Preparation for the Analysis of Pesticide Residues, *J. Environ. Sci. Health. Part B*, 31, 443-450.
- [18] Maestroni, B., Ghods, A., El-Bidaoui M., Rathor, N., Jarju O.P., Ton, T., Ambrus A. (2000): Testing the efficiency and uncertainty of sample processing using <sup>14</sup>C labelled Chlorpyrifos Part I in Fajgelj A., Ambrus A., eds. *Principles of Method Validation* pp. 49-58, Royal Society of Chemistry Cambridge UK.
- [19] Maestroni, B., Ghods, A., El-Bidaoui, M., Rathor, N., Ton, T., Ambrus, A. (2000) Testing the efficiency and uncertainty of sample processing using <sup>14</sup>C labelled Chlorpyrifos Part II in Fajgelj A., Ambrus A., eds. *Principles of Method Validation* pp. 59-74, Royal Society of Chemistry Cambridge UK.
- [20] Fussell, R. J. Hetmanski, M.T. Macarthur, R. Findlay, D., Smith, F., Ambrus, Á. and Brodesser, J. P. (2007) Measurement uncertainty associated with sample processing of oranges and tomatoes for pesticide residue analysis. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 1062-1070.
- [21] Lehotay, S., J., Maðtovská, K., Lightfield, A.R. (2005): Use of buffering and other means to improve results of problematic pesticides in a fast and easy method for residue analysis of fruits and vegetables, *J. AOAC International*, 88, 615-629.
- [22] Ambrus, Á., Horváth, Zs., Farkas, Zs., Szabó, I., J., Dorogházi, E., Szeitzné-Szabó, M. (2014): Nature of the field-to-field distribution of pesticide residues, *J. Environ. Sci and Health, Part B*, 49, 229-244 Published online: 06 Feb 2014 DOI: 0.1080/03601234.2014.868272
- [23] Farkas, Zs., Kötelesné Suszter, G., Horváth, Zs., Ambrus, Á. (2014) Estimation of sampling uncertainty based on supervised residue trials data. *Közlésre leadva a J. Environ. Sci and Health Part B. folyóiratba.*
- [24] Regulation (EC) No. 178/2002 of the European Parliament and of the Council of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food safety Authority and laying down procedures in matters of food safety, *Official Journal of the European Communities* L31, 1-24
- [25] DG Sanco, (2011): Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed, Document N° SANCO/12495/2011
- [26] Whitaker T.B., Slate, A., Giesbrecht F.G. (2013) Mycotoxin sampling tool, <http://www.fstools.org/mycotoxins>

residue content of composite samples generated by random replacement sampling from relatively small element number (100 to 120) populations agrees well with the central limit theorem (Equation 1), which is shown by the relatively close correlation of the relative 95% concentration range of the pesticide residue distributions, considering the limited element number of the population and random sampling (Figure 10).

Pesticide residue distribution profiles are very similar in independent lots of a given crop after different pesticide treatments (Figures 11-14), which makes it possible to determine typical sampling uncertainties for different crops.

Figure 15 shows the normalized distribution of composite samples of size 10 generated from primary samples taken after 93 independent pesticide treatments of 5 crops of different spatial nature. The completely regular distribution of the relative frequency of pesticide residues indicates that there is practically no difference in the normalized pesticide residue distribution of samples of different crops, which makes it possible to estimate a typical sampling uncertainties for the commodity group based on experimental results of different crops.

#### 5. Estimation of the random error of sampling

The largest database for the determination of sampling uncertainty is based on the results of duplicate samplings performed during the experiments published by the FAO/WHO JMPR. Pesticide experiments are performed on fairly small lots under thoroughly controlled conditions [22]. Since the goal is to determine the average pesticide residue concentration remaining in the treated area as accurately as possible, samples of pesticide experiments usually consist of a significantly larger number of primary samples (12 to 24, depending on the crop) than prescribed in relevant standard sampling procedures. Sampling uncertainties calculated from duplicate samples according to Method B of Section 2.2.1 represent the optimal scenario.

Because product conformity calculated from an underestimated sampling uncertainty can result in serious consequences when determining the pesticide residue content of products before distribution, it is advisable to use for calculations the sampling uncertainty resulting from a significantly larger pesticide residue inhomogeneity of real-life conditions, as described in the introduction. The sampling uncertainties, grouped according to Codex classification of food and feed, recommended for use in pre-marketing control are listed in Table 5.

Detailed results and considerations are found in the publication of Farkas et al. [23]. If it cannot be excluded that the lot sampled contains plant products coming from several growing areas, we recommend that sampling uncertainties listed in the table are multiplied by an experimental factor of 1.4 [1].  $CV_{s1}$  values estimated from a small number of samples are significantly higher than expected, which is partly due to the limited number of data. Therefore, the values given under the line in the table should be treated with caution and, if available, further data should be used to refine them.

#### 6. Checking of product conformity before distribution

According to Regulation (EC) No 178/2002, it is the responsibility of the distributor to make sure that the products distributed satisfy relevant quality and other food safety regulations [24]. Relevant pesticide residue limit values concern the average pesticide residue

content of the sample taken according to the standard [3, 4], which means, for example, that the average pesticide residue content of every 10 apples or 1 kg of tomatoes should be under the maximum residue limit (MRL). If the pesticide residue, measured in the sample, is compared to the limit value then in almost 60% of the cases (Figure 7) it is possible that a follow up repeat sampling will result in pesticide residue concentrations above the limit value. Therefore, if we want to be sure that our product conforms to limit value prescriptions in the majority of cases (e.g. in 95 or 98 percent), a level lower than the limit value has to be determined, which cannot be exceeded by the pesticide residue concentration in samples taken by random sampling. If the pesticide residue concentration in the sample is higher, product conformity can be ascertained by a repeat sampling. The pesticide residue concentration ensuring product conformity at the selected probability level is called the action limit (AL).

During authority inspections, values measured in the sample are not compared directly to limit values either, but to a decision level determined by taking into account analytical uncertainty. In the European Union, combined expanded uncertainty of laboratory measurements is uniformly set at 50% [25]. In accordance with this, if the limit value is 1 mg/kg, a lot can be classified as nonconforming, if the pesticide residue measured is  $\geq 2$  mg/kg. These relationships are illustrated in Figure 16.

To make the determination of the action limit more easy, assuming a log-normal pesticide residue distribution which provided the best fit, we developed an Excel program by further elaboration of the procedure published by Whitaker et al. [26]. The input parameters and the outputs corresponding to them are shown in Figure 17. Desired parameters are entered by the user in the cells indicated by turquoise colour in the figure: the number of parallel laboratory samples tested; the number of primary samples in the sample; the combined uncertainty value ( $CV_1$ ) characterising the reproducibility conditions in the laboratory; the number of parallel analytical samples tested, and the target acceptable nonconformity level of the distributor ( $\beta_v = 0.02 = 1 - \beta_v$ ). The upper figure shows that under analytical conditions in accordance with the input parameters, to obtain 98% conformity, when analyzing one, two and four parallel random samples, none of the concentrations measured can exceed the values of 0.41; 0.6 and 0.81 mg/kg, respectively.

The Excel sheet can also be used to calculate the probability of conformity of the lot sampled, based on the actual pesticide residues measured.

Let's assume that the limit value is 1 mg/kg and in samples taken from three different lots, the following pesticide residue concentrations are measured:

Lot	Number of parallel samples	Pesticide residue values measured			
1	1	0.3			
2	2	0.65	0.3		
3	4	0.95	0.65	0.45	0.3

Maximum pesticide residue values measured in the parallel samples are entered in the line „Accept Limit=<= (mg/kg) Forced”. Values shown in the line „Accept Probability at MRL Calc.” in Figure 18 are calculated: lot no. 1 will conform to limit value regulations with a probability of 99.8% ( $\beta_v = 0.002 = 1 - 0.998$ ). Conformity probability of lots no. 2 and 3 are 96.4% and 92.2%, respectively. These relationships are clearly indicated by the diagram. It is the responsibility (risk) of the producer, whether lots with the aforementioned conformity probabilities are distributed or not.

## 7. Summary, recommendations

Pesticide residue levels in crops coming from treated areas (e.g. an apple or a head of cabbage) can vary widely, which is manifested in the different pesticide residue contents of composite samples of 5 to 10 primary samples taken repeatedly in accordance with relevant regulations. Analytical results of a single sample can only give an estimation of the expected pesticide residue content of the lot. Considering that the registered maximum residue limits (MRL) are valid for the average pesticide residue content of composite samples taken from crops according to regulations, in theory, all units of the products to be distributed with a mass corresponding to a composite sample and containing the specified number of primary samples have to comply with the legal limits. It is the responsibility of the distributor that only products satisfying relevant regulations are distributed.

Sampling uncertainty (variability of the results of repeat samplings) depends on the primary samples in the sample and the mass of the sample. Therefore, during preliminary inspection of the products, extra care should be taken that sampling is performed according to regulations, and that minimum number of natural units and mass of the sample conforms to relevant official procedures [3, 4], otherwise no realistic conclusions can be drawn from the results.

The distributor has to decide to what extent its product should satisfy legal (or customer-specific) requirements, i.e. what kind of risk it is willing to take for that the product would be classified as nonconforming during a customer or authority inspection. The sampling plan can be prepared and the maximum allowable pesticide residue concentration (action level) in the sample(s) taken from the product can be determined, knowing the target conformity percentage, and sampling and analytical costs.

As a first approximation, in case of average laboratory analytical practice, and lots coming from the same growing area and containing more than 0.01 mg/kg pesticide residue, when analyzing one, two and four parallel samples once, it can be expected that the pesticide residue content of the lot sampled will satisfy the allowed limit values in 98% of cases with a probability of 95%, if the maximum pesticide residue concentration measured in the sample(s) is no more than 0.4MRL, 0.6MRL and 0.8MRL, respectively. With the help of a software developed by the authors, it is easy to determine action levels, and expected conformity levels according to the analytical conditions for a certain pesticide residue concentration measured.

## Acknowledgement

Results in this publication are based, in part, on research performed in the Seventh Framework Programme of the EU (BASELINE Grant Agreement no. 222738). The authors would like to thank to Professor Whitaker and Dr. Slate for their help in the development of the macro, to Dr. Ganzelmeir for the pictures made available to us, and to Wessling Nonprofit Kft. for the practical application of the results, and for their support in the wide range presentation of the results.





## 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](http://waters.com/food).**

**Waters**

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

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







# Clostridium difficile: új élelmiszer-biztonsági veszély?

**Kulcsszavak:** *Clostridium difficile*, kórházi fertőzések, élelmiszer-biztonság, bélrendszer, zoonózis, élelmiszer-szennyezettség, bakteriológiai jellemzők, toxinok, inaktiválás, kimutatás, vizsgálati módszerek, kockázatbecslési feladatok.

## Összefoglalás

A *Clostridium difficile* anaerob spóráképző és polipeptid toxinokat képző baktérium nagy virulenciájú törzsei a bél mikrobiota antibiotikumok okozta károsodása esetén csökkent immunitású egyéneknél életveszélyes vastagbélgyulladást okozhatnak. A *C. difficile* fertőzés (CDI) korunkra kiemelkedő jelentőségű kórházi járványügyi problémává vált. A jelen közlemény a közelmúlt releváns szakirodalmából válogatva hívja fel a figyelmet arra a problémára, hogy ez a kórokozó potenciálisan zoonotikus jellegű és élelmiszerekkel is közvetíthető lehet. Bár az élelmiszer okozta CDI-nek nincsenek bizonyított esetei, az utóbbi években a baktérium járványügyi jelentőségű törzseit kisebb-nagyobb gyakorisággal különféle élelmiszerekből is izolálták. A klinikai mikrobiológiai gyakorlatban eredményesen alkalmaznak molekuláris diagnosztikai módszereket. Élelmiszer-biztonsági célokra azonban még sokirányú kutatás és szabványosítható vizsgálati módszerek kidolgozása, elfogadása és alkalmazása szükséges.

## 1. Összefoglalás

A *Clostridium difficile* anaerob spóráképző és polipeptid toxinokat képző baktérium, amely körülbelül az ezredforduló óta kiemelkedő jelentőségű kórházi járványügyi problémává vált hazánkban is (1), (2). Ennek oka az először Észak-Amerikában, majd rövidesen Európában is megjelent, nagy virulenciájú törzseinek az elterjedése. A fertőzés akkor alakul ki, ha a bél „normál” mikrobiotája (3) károsodik, például antibiotikum-használat következtében. A megbetegedés tünetei az enyhe hasmenéstől az életveszélyes „álhártyás vastagbél gyulladásig” (pseudomembranosus colitis-ig) terjednek. Különösen idősebb életkor és legyöngült immunrendszer fontos kockázati tényezői. Az előbbi tapasztalat az elöregedő népességű társadalmakban különösen fontos problémává válik. Ugyanakkor a népesség kisebb-nagyobb hányada a baktérium klinikai tünetektől mentes „hordozója”. A nem toxinogén törzsei is széles körben elterjedtek természetben.

Ennek az „új” patogénnek az élelmiszer-biztonsági jelentőségét mutatja, hogy az Európai Élelmiszer-biztonsági Hivatal (EFSA) szakértői is foglalkoznak a *Clostridium difficile* potenciális problémájával (Szeitzné Dr. Szabó Mária, személyes közlés). Különösen

megfontolandó, hogy a legvirulensebb PCR-ribotípusai (027 és 078) azok, amelyeket a leggyakrabban izolálnak élelmiszerekből is. Korunkra a *Clostridium difficile* fertőzés (*Clostridium difficile* infection, CDI) globális jellegűvé és a meticillin-rezisztens *Staphylococcus aureus*-okozta fertőzésekhez hasonló közegészségügyi és gazdasági kihívássá vált. Indokoltnak tartjuk ezért, hogy e folyóirat olvasóinak is felhívjuk a figyelmét a cikk címében jelzett témára, és a következőkben rövid áttekintést adjunk a közelmúltban megjelent releváns szakirodalomból kivonatolt ismeretanyagról. Áttekintésünkben elsősorban a Rodriguez-Palacios és szerzőtársai (4), (5) valamint Doyle (6) által írott tanulmányokat vettük alapul.

## 3. Rövid történeti áttekintés

Ezt a baktériumot első alkalommal már 1935-ben izolálták, de hosszú évekig gyermekek bél mikrobiotája humán patogenitással nem rendelkező tagjaként könyvelték el. Csupán az antibiotikumok használatának elterjedésével, az 1970-es évek közepén állapították meg, hogy fertőzést okoz, az antibiotikum által károsodott „bélfloorában” elszaporodási lehetőséget nyerve. A XX. század utolsó évtizedeiben még vitatott volt, hogy a *C. difficile*-t élelmiszer közvetítheti-e (5). Élelmiszerből, mintegy mellékesen, elsőként 1996-

<sup>1</sup> Budapesti Corvinus Egyetem, Hűtő- és Állattermék-Technológiai Tanszék

<sup>2</sup> Budapesti Corvinus Egyetem, Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszék

<sup>1</sup> Corvinus University of Budapest, Faculty of Food Science, Department of Refrigeration and Livestock's Products Technology

<sup>2</sup> Corvinus University of Budapest, Faculty of Food Science, Department of Microbiology and Biotechnology



ban izoláltak *Clostridium difficile*-t, vákuum-csomagoltan, hűtőtárolás közben megromlott darált marha- és sertéshús mintákból (7). Az azonban az utolsó két évtizedben egyértelművé vált, hogy a *C. difficile* fő rezervoárja az ember és a melegvérű állatok béltraktusa. Úgy látszik, hogy lassú szaporodása és gyenge szaporodási versenyképessége miatt az egészséges bélrendszerben nem jut szerephez, azonban a bél mikrobiótának bármilyen antibiotikummal történő megzavarása, vagy a mikrobiota egyensúlyának más okok miatti megbomlása érzékeny egyéneknél CDI-t okozhat

#### 4. Élelmiszer-biztonsági vonatkozások

Az orvostudományi szakirodalommal ellentétben az élelmiszer-mikrobiológiai, élelmiszer-tudományi szakirodalomban *C. difficile*-vel kapcsolatos közlemények még csupán gyéren találhatók, de már az eddigiek is jelzik azt, hogy olyan, eddig nem kellően figyelembe vett kórokozóról van szó, amely potenciálisan zoonotikus jellegű, illetve élelmiszerrel is közvetíthető lehet (8). Bár közvetlenül élelmiszer-okozta CDI-nek nincsenek bizonyított esetei, nem lehet kizárni, hogy kórházon kívüli környezet és különösen állati eredetű, a baktériummal szennyezett élelmiszerek is forrásaivá válhatnak *C. difficile* fertőzéseknek (4). 2006. óta járványügyi jelentőségű törzseit is izolálták különféle élelmiszerekből, főként húskészítmények kiskereskedelmi mintáinak kisebb-nagyobb hányadából (9), (10), leginkább Kanadában és az USA-ban. Izoláltak azonban *Clostridium difficile*-t növényi termékekből is (11). Európában az élelmiszereken való előfordulása kisebb gyakoriságúnak látszik, mint Észak-Amerikában.

A baktérium szaporodási hőmérséklet-tartománya 25 és 45 °C közötti, 30 és 37 °C közötti optimális hőmérséklettel. Spórái miatt környezeti szennyezőként hosszú ideig életben maradhat. Bár konzervtechnológiai értelemben a spórái nem látszanak más spóras fajokhoz képest kimagaslóan hőtűrőnek, az ételek szokásos háztartási főzési körülményei kellő biztonsággal nem inaktíválják őket (12). A *C. difficile* toxinjainak stabilitásáról, különösen élelmiszer-összetevők jelenlétében, még nincs elegendő információ (6).

Vitatott, hogy probiotikumokkal (laktobacillusok, bifidobaktériumok, stb) mennyire megbízhatóan lehet a CDI ellen védekezni (13), (14), (15). Az alapvető higiéniai rendszabályok (kézmosás) és a dezinficiálás klasszikus módszerei természetesen nem nélkülözhetők ebben a kockázati körben sem, de figyelmet érdemes fordítani a spóra-inaktíválás innovatív, új módszereire, például az atmoszferikus hideg plazmával történő fertőtlenítési metodikára is (16), (17).

#### 5. Vizsgálati szempontok

A molekuláris biológiai metodikák, főként a polimeráz láncreakciót (PCR) alkalmazó „ribotyping” az emberi és állati eredetű minták fontos vizsgálati területe (2). A tenyésztéses módszerek kezdeti alkalmazásainak nehézségére a baktérium első elnevezése (*Bacillus difficilis*) is utal. Ma már azonban – legalábbis a klinikai mikrobiológia gyakorlatában – a különféle szelektív táptalajok használatát és egyéb más megoldásokat számos kereskedelmi készítmény és eszköz szolgálja, még ha költségesek is (2). A tenyészteteinek jellegzetes szaguk van, és UV fluoreszcenciát mutat-

nak. A toxin(ok) kimutatására enzim immunoassay (EIA) módszerek és immunkromatográfián alapuló tesztek használatosak. A glutamát-dehidrogenáz (GDH) metabolikus enzim kimutatása azoknak a laboratóriumoknak ajánlott, amelyek nincsenek felkészülve molekuláris diagnosztikai módszerek használatára. A GDH-t a *Clostridium difficile* törzsei nagy mennyiségben képzik, de az enzim kimutatása csak szűrővizsgálatra használható, mert egy másik baktérium, a *Clostridium sordelli* is termeli. A viszonylag olcsó GDH teszt pozitivitása esetén ezért a *C. difficile* jelenlétét más módszerekkel meg kell erősíteni. A negatív szűrővizsgálati eredményt is nagy információ értékűnek tekintik a klinikai mikrobiológiában. Olyan gyári készítmények is forgalomban vannak, amelyek kombinálják a GDH- és a toxinkimutatást. Az élelmiszer-biztonsági kockázatbecslés céljára azonban még sokirányú kutatás és szabványosított, összehasonlítható módszerek kidolgozása, elfogadása és alkalmazása lenne szükséges. A genomikai és a rendszerbiológiai szemléletnek az elterjedése (18) ilyen értelemben is fontos kihívássá válik a XXI. század élelmiszer-mikrobiológusai számára.

#### 6. Irodalom/References

- (1) OEK (2013) Összefoglaló az egészségügyi ellátással összefüggő *Clostridium difficile* fertőzések hazai járványügyi helyzetéről. EPINFO, Epidemiológiai Információs Hetilap, Országos Epidemiológiai Központ, 20 (16) 169-173.
- (2) Urbán, E. (2013): A *Clostridium difficile* infekciók mikrobiológiai diagnosztikai lehetőségei. IME, 12 (8) 24-30.
- (3) Farkas J. (2013): Bél mikrobiotánk táplálkozás-tudományi és élelmiszer-vizsgálati jelentősége. Élelmiszervizsgálati Közlemények, 59 (3) 89-94.
- (4) Rodriguez-Palacios, A., Le Jeune, J. T. & Hoover, D. G. (2012): *Clostridium difficile*: an emerging food safety risk. Food Technol., (9) 40-48.
- (5) Rodriguez-Palacios, A., Borgmann, S., Kline, T. R., LeJeune, J. T. (2013) *Clostridium difficile* in foods and animals: history and measures to reduce exposure. Animal Health Reviews, pp. 1-19. <http://journals.cambridge.org/action/displayJournal?jid=AHR>
- (6) Doyle, M. E. (2013): *Clostridium difficile* as a risk associated with animal sources. FRI Food Safety Review. Food Research Institute, University of Wisconsin-Madison, January 2013. pp. 1-18.
- (7) Broda, D. M., De Lacy, K. M., Bell, R. G. et al. (1996): Psychrotrophic *Clostridium* sp. associated with 'blown pack' spoilage of chilled vacuum-packed red meats and dog rolls in gas-impermeable plastic casings. Int. J. Food Microbiol., 29, 335-352.
- (8) Hensgens, M. P., Keessen, E.C., Squire, M. M. et al. (2012) *Clostridium difficile* infection in the community: a zoonotic disease? Clin. Microbiol. Infect., 18 (7) 635-645.
- (9) Rodriguez-Palacios, A., Staempfli, H. R., Duffield, T. & Weese, J. S. (2007): *Clostridium difficile* in retail ground meat, Canada. Emerging Infectious Diseases, 13, 485-487.
- (10) Jöbstl, M., Heuberger, S., Indra, A. et al. (2010) *Clostridium difficile* in raw products of animal origin.

# Clostridium difficile: a new food safety hazard?

József Farkas<sup>1</sup> and Csilla Mohácsiné Farkas<sup>2</sup>

**Keywords:** *Clostridium difficile*, hospital infections, food safety, intestinal tract, zoonosis, food contamination, bacteriological characteristics, toxins, inactivation, detection, analytical methods, risk assessment tasks.

## 1. Summary

When the gut microbiota is damaged by antibiotics, life-threatening inflammation of the colon can be caused in persons with a weakened immune system by highly virulent strains of *Clostridium difficile*, an anaerobic spore-forming and polypeptide toxin producing bacterium. *C. difficile* infection (CDI) has become an epidemic problem of paramount importance in hospitals. In the present paper, surveying relevant recent literature, attention is called to the problem that this pathogen can potentially zoonotic and might be transmitted with foods. Although there are no proven cases of foodborne CDI, strains of epidemiological importance of the bacteria have been isolated from different foods more or less frequently in recent years. Molecular diagnostic methods are employed successfully in clinical microbiological practice. However, for food safety purposes, multifaceted research is still necessary, as well as the development, adoption and implementation of analytical methods that can be standardized.

## 2. Introduction

*Clostridium difficile* is an anaerobic spore-forming and polypeptide toxin producing bacterium that has been an epidemiological problem of paramount importance in Hungarian hospitals as well, since the turn of the millennium (1), (2). The reason for this is the spreading of its highly virulent strains first in North America and then, shortly afterwards, in Europe. Infection occurs when the „normal” gut microbiota is damaged (3), due to, for instance, the use of antibiotics. Symptoms of the illness range from mild diarrhea to life-threatening pseudomembranous colitis. Advanced age and a weakened immune system are especially important risk factors. These factors can cause a particularly important problem in societies with aging populations. However, a smaller or larger fraction of the population is a „carrier” of the bacterium, free of clinical symptoms. Nontoxicogenic strains of it are also widespread in nature.

The importance of this „new” pathogen from a food safety point of view is demonstrated by the potential problem of fact *Clostridium difficile* is also investigated by experts of the European Food Safety Authority (EFSA; Dr. Mária Szeitzné Szabó, personal communication). It is especially important to consider that the most virulent PCR ribotypes (027 and 078) are the ones that are isolated from foods most frequently. By this time, *Clostridium difficile* infection (CDI) has become global in nature, a public health and economic challenge similar to infections caused by Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Therefore, we consider it appropriate to draw the attention

of the readers of this journal to the subject indicated in the title of the article, and in the next section a short overview of relevant recent literature is given. This review is based mostly on studies published by Rodriguez-Palacios et al. (4), (5) and Doyle (6).

## 3. Brief historical overview

This bacterium was first isolated in 1935, but for many years it was considered a member of children’s gut microbiota with no human pathogenicity. It was only determined in the mid-1970s, after the use of antibiotics had become widespread, that it could cause an infection when proliferating in the „gut flora” damaged by antibiotics. In the last decades of the 20th century it was still in question whether *C. difficile* can be transmitted by foods (5). *Clostridium difficile* was first isolated from foods in 1996, almost as an aside, from vacuum packaged ground beef and pork samples that perished during refrigerated storage (7). However, it became evident in the last two decades that the main reservoirs of *C. difficile* are the intestinal tracts of humans and warm-blooded animals. It seems that, because of its slow growth and its low proliferation competitiveness, it does not play a role in a healthy intestinal tract, however, any disturbance to the gut microbiota by antibiotics, or a disruption of the balance of the microbiota due to other factors, can cause CDI in sensitive individuals.

## 4. Food safety aspects

Contrary to medical literature, publication related to *C. difficile* only rarely found in food microbiology and food science literature, but the ones so far already show that it is a pathogen, not given the proper attention previously, that is potentially zoonotic in nature and can be transmitted by foods (8). Although there are no known cases of directly food-induced CDI, it cannot be excluded that non-hospital environment and especially foods of animal origin, contaminated with the bacterium, can become sources of *C. difficile* infections (4). Since 2006, its strains of epidemiological importance have been isolated from various foods, especially from smaller and larger fractions of retail samples of meats and meat products (9), (10), mainly in Canada and the USA. However, *Clostridium difficile* was also isolated from plant products (11). It seems that it occurs in foods in Europe less frequently than it does in North America.

Growth temperature range of the bacterium is between 25 and 45 °C, with the optimal temperature being between 30 and 37 °C. Because of its spores, it can survive as an environmental contaminant for a long time. Although in terms of canned food technology its spores do not appear to be especially heat resistant compared to other spore-forming species, they are not inactivated sufficiently under normal household cooking conditions (12). There is still a lack of information on the stability of *C. difficile* toxins, especially in the presence of food ingredients (6).

It is disputed how effective protection probiotics (lactobacilli, bifidobacteria, etc.) provide against CDI (13), (14), (15). Naturally, basic hygiene measures (handwashing) and classical methods of disinfection cannot be avoided by people at risk, but it is also worthwhile to pay attention to new, innovative methods of spore inactivation, such as cold atmospheric plasma disinfection (16), (17).



Int. J. Food Microbiol., 138, 172-175.

(11) Metcalf, D. S., Costa, M. C. Dew, M. W. & Weese, J. S.. (2010): *Clostridium difficile* in vegetables, Canada. Lett. Appl. Microbiol., 51, 600-602.

(12) Rodriguez-Palacios, A. & Le Jeune, J. T. (2011) Moist-heat resistance, spore aging, and superdormancy in *Clostridium difficile*. Appl. Environ. Microbiol., 77, 3085-3091.

(13) NDA (2010): EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA) Scientific opinion on the substantiation of a health claim related to fermented milk containing *Lactobacillus casei* DN-114 001 plus yoghurt symbiosis (Actimel®) and reduction of *Clostridium difficile* toxins in the gut of patients receiving antibiotics and reduced risk of acute diarrhoea in receiving antibiotics pursuant to Article 14 of Regulation (EC) no. 1924/2006. EFSA J., 8, 1903. [www.efsa.europa.eu/efsajournal.htm](http://www.efsa.europa.eu/efsajournal.htm)

(14) Guarner, F., Sanders, M. E., Gibson, G. et al.

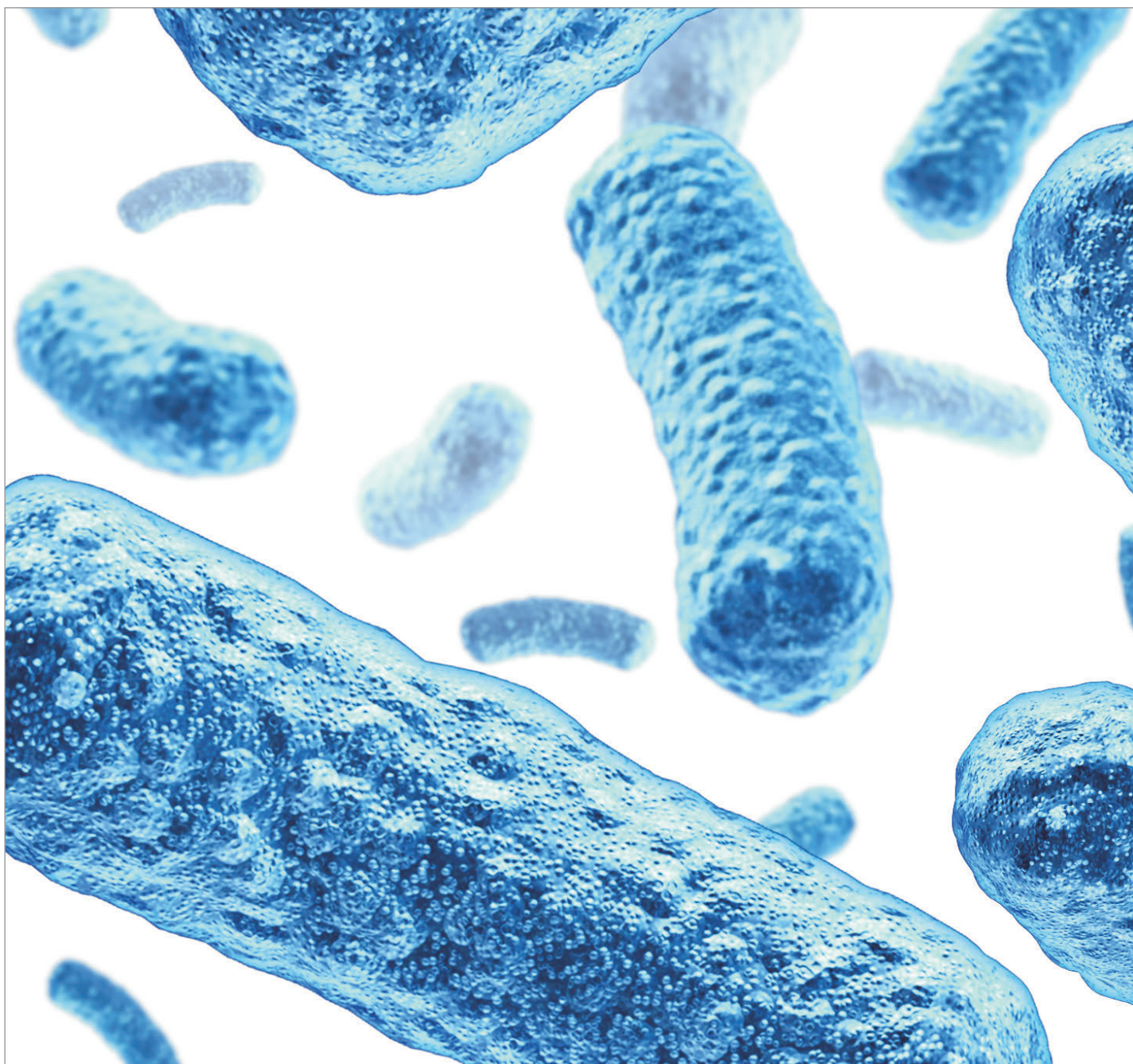
(2011): Probiotic and prebiotic claims in Europe: seeking a clear roadmap. Letter to the Editor. British J. Nutrition, pp. 1-3.

(15) De Vrese, M. & Scherzenmeier, J. (2012): The role of probiotics in maintaining a healthy gut when antibiotics are used. Annals Gastroenterol. & Hepatol., 3 (1) 15

(16) Farkas J. (2012): Igéretes, új élelmiszeripari fertőtlenítő módszer: az atmoszferikus hideg plazma alkalmazása. Élelmiszer Tudomány Technológia, 66, 2-3.

(17) Tseng, S., Abramzon, N., Jackson, J. O., Liu, W. J. (2012): Gas discharge plasmas are effective in inactivating *Bacillus* and *Clostridium* species. Appl. Microbiol. Biotechnol., 93, 2563-2570.

(18) Farkas J. & Mohácsiné Farkas Cs. (2013): Új tudományterületek, amelyekre az élelmiszer mikrobiológusnak is érdemes odafigyelni. Élelmiszer Tudomány Technológia, 67 (1) 7-11.





## 5. Analytical aspects

Molecular biological methodologies, especially „ribotyping” by polymerase chain reaction (PCR), are an important area of analysis for samples of human and animal origin (2). Difficulties of the initial application of culturing methods is indicated by the first name of the bacterium (*Bacillus difficilis*). These days, however, at least in the practice of clinical microbiology, the use of selective media and other solutions are aided by several commercial products and instruments, even though these are quite costly (2).

Its cultures have a characteristic odor, and show UV fluorescence. To detect the toxin(s), enzyme immunoassay (EIA) methods and tests based on immunochromatography are used. Detection of the metabolic enzyme glutamate dehydrogenase (GDH) is recommended for laboratories that are not equipped for the use of molecular diagnostics

methods. GDH is produced by the strains of *Clostridium difficile* in large quantities, but detection of the enzyme can be used only for screening, because it is also produced by another bacterium, *Clostridium sordelli*. Therefore, the presence of *C. difficile* has to be confirmed by other methods, if the results of the relatively cheap GDH test are positive. Negative screening test results are also considered highly valuable information in clinical microbiology.

There are also commercial products on the market that combine GDH and toxin detection. However, for food safety risk assessment, multifaceted research is still necessary, as well as the development, adoption and implementation of analytical methods that can be standardized and compared. For food microbiologists of the 21st century, spreading of the genomics and system biology approach (18) will be a major challenge in this sense as well.







# Telepszámok szerepe az ivóvíz-szolgáltatásban

**Kulcsszavak:** ivóvíz, termelés, szolgáltatás, fertőtlenítés, telepszám, identifikáció, közegészségügy, klórrezisztencia

## Összefoglalás

Az ivóvíz az egyik legszigorúbban ellenőrzött élelmiszer, amelyre jellemző, hogy kémiai-fizikai tulajdonságai állandónak mondhatók, de biológiailag aktív közeg, amit a víziközmű üzemeltetők fertőtlenítéssel tudnak szabályozni. A kezelés hatékonyságának ellenőrzésében a fekális szennyeződést jelző baktériumok mellett az un. indikátor szervezeteknek is fontos szerepük van, így a telepszámnak is. A vizek általános mikrobiológiai jellemzésére használatos telepszám a 22°C és 37°C-on tenyészthető baktériumok telepeinek összessége, amelynek szabvány szerinti vizsgálata az általános bakteriológiai fertőzöttségre jellemző mennyiségi információt ad az üzemeltetőnek. Célunk az volt, hogy megismerjük a Fővárosi Vízművek Zrt. termelési és szolgáltatási területén előforduló mikroorganizmusokat és klóralapú fertőtlenítőszerrel szembeni rezisztenciájukat. Eredményeink alapján az azonosított baktériumok vizes rendszerekben gyakran előforduló, biofilm alkotó, egészségre nem káros szervezeteknek bizonyultak. Mindezek mellett a hálózatban alkalmazott klórozáshoz képest csak több tízszeres klórkoncentráció esetén értünk el hatékony fertőtlenítést a termelési területekről izolált törzsek esetén.

## 2. Bevezetés és irodalmi áttekintés

Az ivóvíz kémiai jellemzőit elsősorban a vízbázis határozza meg, és azok a vízkezelési technológia megfelelő megválasztásával stabil szinten tarthatók. Az ivóvíz azonban nem steril közeg, így előfordulhatnak benne baktériumok, amelyek megjelenését a vízbázis, a vízkezelés folyamata, a fertőtlenítés, a hálózat állapota és egyes fizikai tényezők is befolyásolják [1]. Az ivóvíz mikrobiológiai vizsgálati köre kiterjed a fekális szennyeződést jelző baktériumokra és az un. indikátor paraméterekre [2]. Ez utóbbiak között szerepelnek, mint gyújtóparaméterek, a 22°C és 37°C-on tenyészthető baktériumok, amelyek mennyiségi információt adnak a vízben megjelent mikroorganizmusokról. Hasznos információt nyújtanak az ivóvíz jellemzéséhez, felügyeletéhez, így a vízkezelési eljárások hatékonyságának értékeléséhez, a vízelosztó rendszerek állapotának monitorozásához vagy komoly szennyeződések előrejelzéséhez. A telepszámok legnagyobb értéke, a hosszú távú megfigyeléseken alapuló, a várt értékekhez képest bekövetkező változások észlelésében rejlik [3].

A megszokott értékeknél nagyobb telepszám az ivóvízben a mikrobiológiai aktivitás növekedésére utal, amelynek az alábbi okai, illetve jellemző faktorai lehetnek [4]:

- energia- és szénforrás mennyiségének növekedése a vízben (szerves anyag tartalom);
- az ivóvízzel érintkező szennyezett/fertőzött anyagok, eszközök ;
- üledékek jelenléte;
- vízhőmérséklet változása (növekedése);
- hidraulikai állapotok (áramlási sebesség) változásai, turbulencia kialakulásának lehetősége;
- fertőtlenítőszer jelenléte/hiánya, fertőtlenítőszer hatásmechanizmusa;
- a technológiában megengedethez képest nagyobb tartózkodási idő (pangó víz).

Az ivóvíz mikrobiológiai aktivitását elsősorban fertőtlenítéssel csökkenthetjük. Az oxidáló hatású fertőtlenítőszer hatásmechanizmusának lényege a mikroorganizmusok enzimrendszerének irreverzibilis befolyásolása, ennek következtében az élő szervezet elpusztítása. Leggyakrabban alkalmazott szerek a klór, nátrium-hypoklorit, klór-dioxid és ózon. Ismert még az ezüst, a jód és a bróm használata is, azonban ezek a módszerek nagyobb mértékben nem terjedtek el ivóvízes alkalmazásban [5].

<sup>1</sup> Fővárosi Vízművek Zrt.

<sup>1</sup> Waterworks of Budapest Private Company Limited by Shares



A Fővárosi Vízművek Zrt. átlagosan 0,3-0,5 mg/l behatási klórkoncentrációt alkalmaz a fogyasztói hálózaton másodlagos fertőzések megakadályozására. Egyéb megelőző tevékenységként pedig a termelő kutaknál rendszeres 2 mg/l-es üzem közbeni fertőtlenítést és esetenként, kútleállítással együtt járó 10 mg/l-es fertőtlenítést is végeznek.

Sok baktérium túlél a fertőtlenített ivóvízben is azáltal, hogy olyan mikrokörnyezetbe kerül, vagy olyat alakít ki magának, ahol védeltséget élvez a különféle fertőtlenítőszerrel szemben. A fertőtlenítő szerekkel szemben az alábbi faktorok jelenthetnek védelmet a baktériumsejteknek [6]:

- megtelepedést elősegítő felületek/biofilm;
- betokozódás/kapszulaképzés;
- sejtek aggregálódása;
- adaptálódás a környezeti feltételekhez (kevés tápanyag jelenléte esetén);
- különbségek a természetben előforduló törzsek között (érzékenység különböző fertőtlenítőszerrel szemben);
- rezisztencia-mechanizmusok interakciója.

### 3. Anyag és módszer

#### 3.1. Mintavételek és értékelés

Vizsgálati mintáink több éves időszakból származtak, és kísérleteink utolsó szakaszában a víztestek tartózkodási idejét is figyelembe véve un. vízvonalak mentén követtük nyomon a víz útját. A Fővárosi Vízművek Zrt. szentendrei-szigeti vízbázisától, azaz termelő területeitől a fogyasztó hálózatiig végeztünk mintavételeket.

Összességében 67 db mintából 339 db baktériumtelep biokémiai azonosítása történt meg, és 13 db mikroorganizmus törzs klórrezisztencia-vizsgálatát végeztük el különböző klórkoncentrációk alkalmazásával. Az adatok kiértékelésekor, a könnyebb áttekinthetőség érdekében a mintákat származási helyük alapján csoportosítottuk: klórozatlan és klórozott termelési területre, valamint szolgáltatott vízre, amely utóbbi magába foglalja az összes mintavételi pontot az ivóvíz hálózatba történő belépésétől a fogyasztói csapig.

#### 3.2. Telepszámok tenyésztéses vizsgálata

A szakirodalom alapján a telepszámok vizsgálatára számos módszer áll rendelkezésre, amelyek a táptalaj összetételében, a termosztálási idő- és hőmérséklet-beállításokban térnek el egymástól. A magyarországi szabályozás azonban az „MSZ EN ISO 6222:2000 szabvány [8] alkalmazását követeli meg. A mintákat a szabványnak megfelelően 22 és 37°C-on is inkubáltuk.

#### 3.3. Telepek biokémiai azonosítása

Az MSZ EN ISO:6222 által előírt táptalajon megjelenő telepek biokémiai azonosítását un. BBL Crystal Identification (BBL) technikával végeztük el, amely a mikrobák biokémiai sajátosságai alapján képes fajszintű meghatározást adni. Ehhez a telepszám vizsgálatához alkalmazott táptalajon megjelenő te-

lepekből - morfológiai differenciálás alapján (telepek színe, megjelenési formája, alakja, táptalajban való elhelyezkedése) - biokémiai azonosításra mintánként 1-15 telepet készítettünk elő.

#### 3.4. Klórrezisztencia-vizsgálatok

A klórrezisztencia-vizsgálatokat az MSZ EN 1276:2010 szabvány [9] szerint végeztük el. A megfelelő fertőtlenítő hatás feltétele a kiindulási baktériumszámhoz képest az 5 log értékű (99,999% hatékonyság) mikrobaszám-csökkenés elérése.

Az izolált mikroorganizmusok klórrezisztencia-vizsgálatának kísérleti feltételei:

- szabad klórkoncentrációk: 1-2-10 mg/L NaOCl;
- behatási idő: 1-2-4-6-24 óra;
- teszhőmérséklet: átlag vízhőmérséklet 13°C.

### 4. Eredmények

#### 4.1. Biokémiailag azonosított mikroorganizmusok elemzése

Az azonosításba bevont telepek közül összesen 24 féle mikroorganizmust sikerült valamely ismert nemzetségbe sorolni. A kinőtt baktérium-kolóniák közül 27 telep nem volt beazonosítható.

Elsőként a két inkubálási hőmérsékleten (22°C-on és 37°C-on) vizsgáltuk meg a mikroorganizmus-csoportok közötti különbségeket. Mindkét hőmérsékleten nagy számban fordultak elő *Acinetobacterium*, *Brevundimonas*, *Corynebacterium*, *Exiguobacterium*, *Micrococcus*, *Staphylococcus* és *Pseudomonas* nemzetségek tagjai. A *Stomatococcus*, *Stenotrophomonas* és *Sphingomonas* genus tagjai inkább 37°C-on, a *Flavimonas* sp. viszont csak a 22°C-on tenyésztett mintáknál jelent meg. Mivel ezen mikroorganizmusok optimális növekedési és szaporodási hőmérséklete tág határok között változik, elemzéseinknél nem tettünk különbséget az eltérő inkubálási hőmérsékleten vizsgált minták között.

Továbbiakban a mikroorganizmusok **területi megoszlását** vizsgáltuk (**1. ábra**), amelyből kitűnik, hogy

- 7 féle mikroorganizmus csoport mindegyik mintavételi területen előfordult;
- 7 törzs csak a termelési területről volt izolálható;
- 4 törzs csak fogyasztói csapokról vett mintákból volt azonosítható.

# The role of colony count in water supply

Beatrix Párkány-Simon, Dr. Anikó Brumbauer

**Keywords:** drinking water, production, service, disinfection, colony count, identification, public health, resistance to chlorine

## 1. summary

Drinking water is one of the most strictly controlled foods, characterized by the fact that its chemical and physical properties are by and large stable, but it is a biologically active medium, which is controlled by water companies using disinfection. In addition to bacteria indicating fecal contamination, so-called indicator organisms, such as colony counts, also play an important role in checking the efficiency of the treatment. Colony counts used for the general microbiological characterization of waters are the number of colonies of bacteria culturable at 22 and 37 °C, and their testing according to the standard provides the operator with quantitative information about general bacteriological contamination. Our goal was to identify microorganisms occurring in the production and service areas of the Waterworks of Budapest, and also their resistance to chlorine-based disinfectants. Based on our results, the bacteria identified are biofilm-forming organisms not harmful to health that commonly occur in aqueous systems. However, in case of strains isolated from production areas, efficient disinfection was only achieved by using chlorine concentrations several tens of times higher than that applied during chlorination of the supply network.

## 2. Introduction and literature overview

Chemical characteristics of drinking water are determined mainly by the water source, and they can be kept stable by choosing a suitable water treatment technology. However, drinking water is not a sterile medium, so it might contain bacteria and their presence is influenced by the water source, the water treatment process, disinfection, the condition of the network and certain physical factors [1]. Microbiological testing of drinking water extends to bacteria indicating fecal contamination and to so-called indicator parameters [2]. The latter include, as cumulative parameters, bacteria that can be cultured at 22 and 37 °C, which provide quantitative information about microorganisms present in the water. They provide useful information to the characterization and supervision of drinking water, such as evaluation of the efficiency of water treatment procedures, monitoring of the condition of water distribution systems or forecasting serious contaminations. The major benefit of colony counts lies in observing changes relative to expected values, based on long-term observations [3].

Colony counts larger than usual values indicates increased microbiological activity in drinking water, which can be caused by the following reasons or factors [4]:

- increased amount of energy and carbon sources in water (organic matter content);
- contaminated/infected materials or equipment in contact with drinking water;
- presence of sediments;
- change (increase) in water temperature;
- changes in hydraulic conditions (flow rate), possible development of turbulence;
- presence/absence of disinfectant, mechanism of action of disinfectant;

- residence time longer than allowed in the technology (stagnant water).

Microbiological activity of drinking water can be reduced primarily by disinfection. The essence of the mechanism of action of oxidizing disinfectants is the irreversible action on the enzyme system of the microorganism and, as a result, destruction of the living organism. Most commonly used agents are chlorine, sodium hypochlorite, chlorine dioxide and ozone. Also known are the use of silver, iodine and bromine, however, these methods have not gained much ground in drinking water applications [5].

The Waterworks of Budapest uses an average chlorine concentration of 0.3 to 0.5 mg/l in the supply network to prevent secondary infections. As other preventive activities, production wells are regularly treated with 2 mg/l of chlorine during operation and, on occasion, 10 mg/l disinfections with stoppage of the well are performed.

Many bacteria can survive in disinfected drinking water by finding or developing a microenvironment where they are protected from different disinfectants. Factors that provide protection against disinfectants for bacterial cells include the following [6]:

- surfaces promoting colonization/biofilm;
- encapsulation;
- aggregation of cells;
- adaptation to environmental conditions (in the presence of low nutrient amounts);
- differences between naturally occurring strains (sensitivity towards different disinfectants);
- interaction of resistance mechanisms.

## 3. Materials and methods

### 3.1. Sampling and evaluation

Our test samples came from a period of several years and, during the last stage of our experiments, the path of water was followed by tracing the so-called water line, taking into account the residence times of the water bodies. Samples were taken starting from the production areas, i.e. the water resources of the Waterworks of Budapest on Szentendre Island, and extending to the supply network.

Overall, biochemical identification of 339 bacterial colonies in 67 samples was performed, and the resistance to chlorine of 13 microorganism strains were tested using different concentrations of chlorine. When evaluating data, to make overview easier, samples were grouped according to places of origin: chlorinated and non-chlorinated production areas and supplied water, the latter including all sampling locations starting from where drinking water enters the supply network, up to the tap of the consumer.

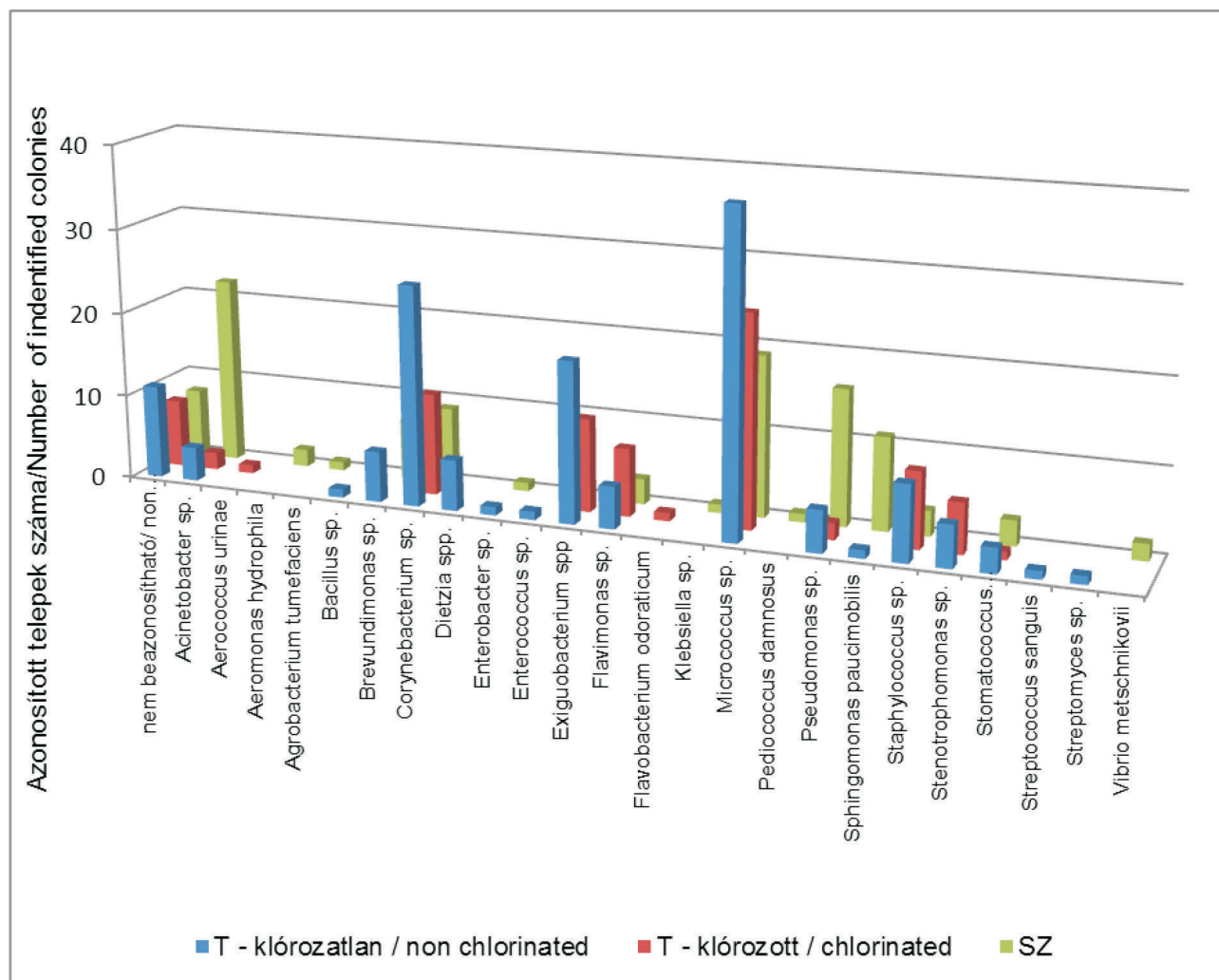
### 3.2. Colony counts by culturing

According to the literature, there are several methods available for the determination of colony counts, which differ in culture media compositions, as well as thermostating time and temperature settings. However, Hungarian regulation requires the application of standard „MSZ EN ISO 6222:2000 [8]. Samples were incubated at 22 and 37 °C, in accordance with the standard.

### 3.3. Biochemical identification of colonies

Biochemical identification of colonies on ISO:6222 culture medium was carried out using the so-called BBL Crystal Identification (BBL) technique, which is able to provide





1. ábra: Mikroorganizmusok területi megoszlása (T: termelés/production, SZ: szolgáltatás/supplied)

Figure 1: Spatial distribution of microorganisms (T: termelés/production, SZ: szolgáltatás/supply)

A területi különbségek feltárására érdekében vízvonalak mentén is végeztünk mintavételeket végighaladva a termelés (vízadó, vízgyűjtő objektumok) és a szolgáltatás (betáplálási pont, elosztó hálózat) pontjain keresztül (2a, 2b, 2c. ábrák).

Az 1. vízvonalon a Szentendrei-sziget keleti víznyerő ágát jellemzi. A gyakran megjelenő mikroorganizmusok közül *Corynebacterium* és *Exiguobacterium* csak termelési területen fordult elő, *Micrococcus* pedig minden mintavételi helyen jelen volt. A hálózati pontnál viszont más típusú baktériumfajok is megjelentek (*Sphingomonas*, *Staphylococcus*).

A Szentendrei-sziget nyugati területén a 2. vízvonali mintáiban a keleti ághoz hasonlóan itt is *Corynebacterium*, *Exiguobacterium*, *Micrococcus* nemzetségek tagjai domináltak, és *Staphylococcus* is jelen volt. A betáplálási ponton *Corynebacterium* mellett *Flavimonas* jelent meg, de ennél a mintánál csak 2 telep képződött az alaptáptalajon.

A Szentendrei-sziget nyugati területén egy másik időpontban a 3. vízvonali esetén szintén *Corynebacterium*, *Exiguobacterium*, *Micrococcus* fajokat találtunk. A termelés klórozatlan pontjánál, üledékekben gyakran előforduló *Dietzia* genust is azonosítottuk, míg ezek a klórozott mintavételi pontoknál már nem

voltak jelen, ugyanakkor a klórozott mintákban megjelentek új fajok (*Aerococcus urinae*, *Bacillus brevis*, *Flavobacterium odoraticum*).



species-level determination of microbes, based on their biochemical characteristics. To do so, 1 to 15 of the colonies appearing on the culture media used for the determination of colony counts were prepared for biochemical identification per sample, based on morphological differentiation (colony color, form of appearance, shape, location in the medium).

### 3.4. Testing resistance to chlorine

Resistance to chlorine was tested according to standard MSZ EN 1276:2010 [9]. Acceptable antiseptic effect was defined as a 5 log reduction in microbe numbers (99.999% efficiency) compared to the original value.

Experimental conditions for testing the resistance of isolated microorganisms to chlorine:

- free chlorine concentrations: 1-2-10 mg/L NaOCl;
- exposure time: 1-2-4-6-24 hours;
- test temperature: 13 °C average water temperature.

## 5. Results

### 5.1. Analysis of biochemically identified microorganisms

Of the colonies involved in the identification, a total of 24 different microorganisms were classified as members of a known genus. 27 of the bacterial colonies grown were not identifiable.

First, differences between microorganism groups were examined at two incubation temperatures (22 and 37 °C). Members of the genera *Acinetobacterium*, *Brevundimonas*, *Corynebacterium*, *Exiguobacterium*, *Micrococcus*, *Staphylococcus* and *Pseudomonas* were found at both temperatures. Members of the genera *Stomatococcus*, *Stenotrophomonas* and *Sphingomonas* were mainly present at 37 °C, while *Flavimonas sp.* was only observed in samples cultured at 22 °C. Since optimum growth and proliferation temperatures of these microorganisms vary widely, during our analyses we did not distinguish between samples tested at different incubation temperatures.

Next, **spatial** distribution of the microorganisms was investigated (**Figure 1**), which shows that

- 7 microorganism groups occurred in each sampling area;
- 7 strains were only isolated from the production area;
- 4 strains were only isolated in samples from consumer taps.

*Figure 1: Spatial distribution of microorganisms (T: termelés/production, SZ: szolgáltatás/supply)*

To explore spatial differences, samples were also taken along water lines, following the points of production (aqui-fers, water collection objects) and service (feed point, distribution network) (Figures 2a, 2b and 2c).

The eastern water collection arm of Szentendre Island is characterized by water line 1. Of microorganisms frequently encountered, *Corynebacterium* and *Exiguobacterium* were present only in production areas, while *Micrococcus* was present at all sampling locations. Other bacterial species also appeared at the supply network location (*Sphingomonas*, *Staphylococcus*).

In the samples of water line 2 on the western side of Szentendre Island, similarly to the eastern arm, dominant

genera were *Corynebacterium*, *Exiguobacterium* and *Micrococcus*, with *Staphylococcus* also present. In addition to *Corynebacterium*, *Flavimonas* appeared at the feed point, but in this sample only 2 colonies formed on the basic medium.

On the western side of Szentendre Island at a different time *Corynebacterium*, *Exiguobacterium* and *Micrococcus* species were found again, in the case of water line 3. The genus *Dietzia*, often present in sediments, was also identified at non-chlorinated points of production, while they were not present any more at chlorinated sampling locations, however, there were new species in the chlorinated samples (*Aerococcus urinae*, *Bacillus brevis*, *Flavobacterium odoraticum*).

*Figure 2a: Microorganism distribution (T: termelés/production, SZ: szolgáltatás/supply) – Water line 1*

*Figure 2b: Microorganism distribution (T: termelés/production, SZ: szolgáltatás/supply) – Water line 2*

*Figure 2c: Microorganism distribution (T: termelés/production, SZ: szolgáltatás/supply) – Water line 3*

Reviewing the data shows that there are differences between the production area and supply network points, both in terms of the composition of the community and the number of isolable strains. Compared to the production area, colony counts are lower at the feed points and the supply network, and the quality changes as well. When comparing the eastern and western arms of Szentendre Island, it is apparent that there are more kinds of microorganisms on the west side, so the microbial community of the different sampling locations is more diverse here.

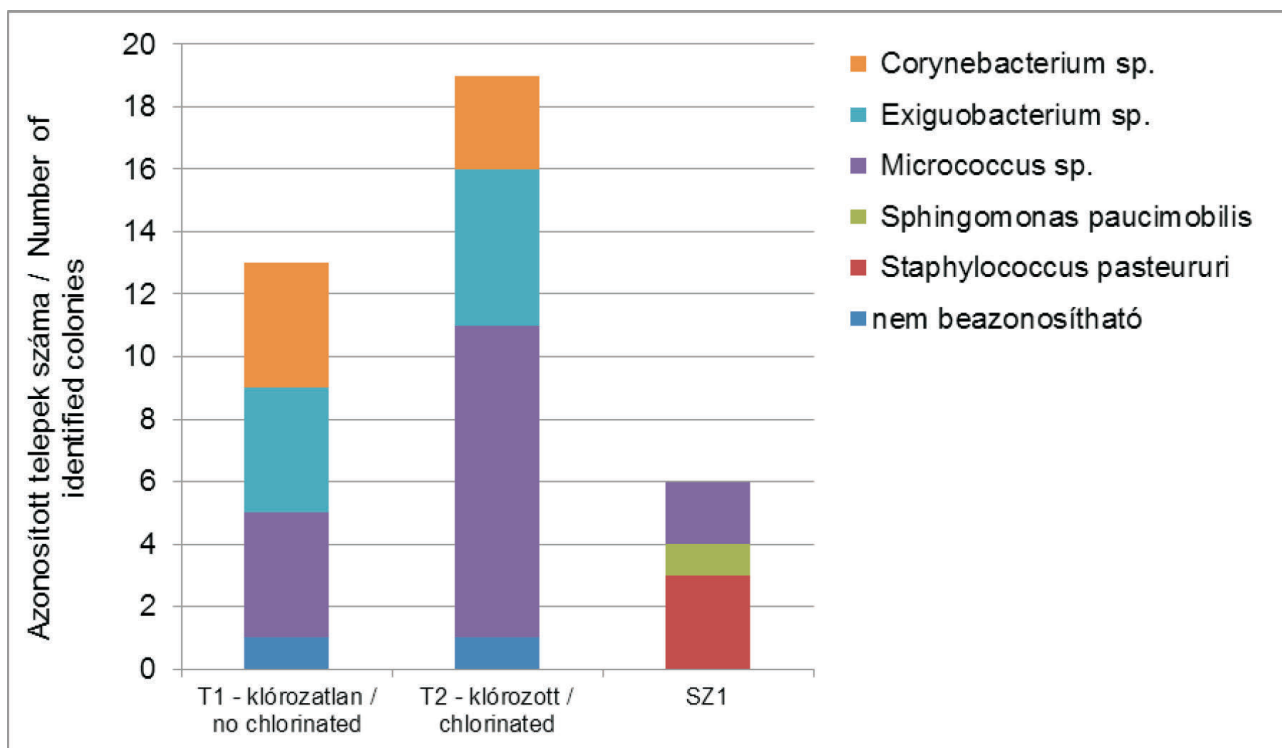
However, when drawing conclusions, it must be taken into account that the number of identified colonies was not the same for each sample, and certain colonies became unviable during inoculation. So, instead of comprehensive conclusions, only assumptions can be made that, in all probability, there are different microbial communities present in production areas and in the supply network.

Examining **seasonal differences**, *Corynebacterium sp.*, *Micrococcus sp.* and *Pseudomonas sp.* species were always present not only spatially, but also in every season (**Figure 3**). Frequently identified members of the genera *Acinetobacter* and *Brevundimonas* – with the exception of winter –, and of genera *Staphylococcus* and *Stenotrophomonas* – with the exception of fall –, were also observed in all seasons. In case of certain microorganisms (*Aerococcus*, *Agrobacterium*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Streptomyces*, *Vibrio*) seasonal changes were not applicable, because of their low incidence. Certain strains showed seasonal changes, for example *Micrococcus sp.*, *Staphylococcus sp.* and *Corynebacterium sp.* were dominant in the winter-spring period, but their presence diminished from summer to fall. However, *Acinetobacter sp.* illustrates clearly the increasing frequency of occurrence going from winter to fall.

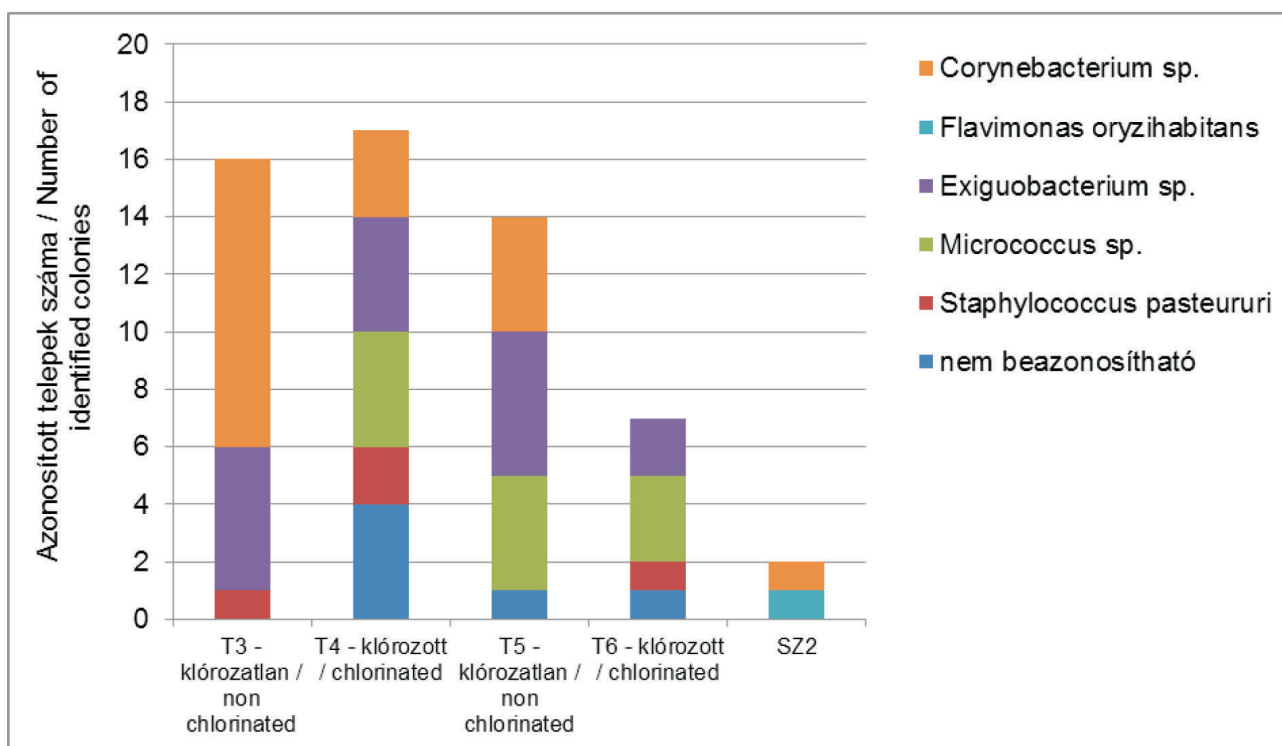
*Figure 3: Seasonal distribution of microorganisms*

Characteristics of strains and genera identified in the colonies were examined from many aspects, for example their Gram-staining properties, based on the structure of the cell walls of bacteria, and indicating the mechanical protection and the resilience of bacterial cells. Our measurements show that 59% of the colonies were Gram-positive (mainly *Micrococcus sp.*, *Corynebacterium sp.*), 33% were Gram-negative (*Acinetobacter sp.*, *Flavimonas sp.*, *Pseudomonas sp.*), and their ratio showed a seasonal variation. During late winter and spring periods, Gram-positive bacteria were dominant with a share of





2a. ábra: Mikroorganizmusok eloszlása (T: termelés/production, SZ: szolgáltatás/supplied) – 1. vízvoal  
 Figure 2a: Microorganism distribution (T: termelés/production, SZ: szolgáltatás/supply) – Water line 1



2b. ábra: Mikroorganizmusok eloszlása (T: termelés/production, SZ: szolgáltatás/supplied) - 2. vízvonall  
 Figure 2b: Microorganism distribution (T: termelés/production, SZ: szolgáltatás/supply) – Water line 2

83%, in summer the ratio became more balanced, while samples from October and November consisted mainly of Gram-negative bacteria 91%).

The vast majority of the species identified has a tendency to form biofilms, which protects microorganisms against disinfectants, and provides a favorable microenvironment for survival even under nutrient-deficient conditions.

About the public health significance of the bacteria tested, it can be generally stated that they do not cause waterborne infections. Some of them can be carriers of virulence factors, but they do not directly impact human health. Members of the heterotrophic flora, such as *Pseudomonads*, however, can pose a risk as opportunistic pathogens to the elderly, hospital patients, people with weakened immune systems and young children. Fortunately, their infective doses are generally high, reported values in the literature are  $10^6$  to  $10^{10}$  cells [7].

## 5.2. Results of chlorine resistance tests

In order to optimize the efficiency of the disinfection method, resistance to chlorine of the microbes most frequently found in the samples was tested.

Only strains from non-chlorinated areas were studied, generally originating from different sampling locations and taken at different times. Initially, several chlorine concentrations were tried, but chlorine concentrations of 1 or 2 mg/L only resulted in a 1 log reduction of bacterial counts (90% efficiency), which occurred in the first hour of the experiment, and no further decrease was observable.

Thus, resistance to chlorine was henceforth tested using a chlorine concentration of 10 mg/L and exposure times of 2, 4 and 24 hours (**Figures 4.a and 4.b**). Mainly microorganisms were chosen that occurred frequently in our system, and the literature provided little information about their resistance to disinfectants, or came from non-chlorinated production areas. In their case, the following disinfection efficiencies were achieved:

- 5 log reduction for *Micrococcus sp.* after 4 hours;
- 4 log reduction for *Staphylococcus sp.* and *Brevundimonas sp.* over 24 hours;
- 3 log reduction for *Flavimonas sp.* over 24 hours;
- for *Pseudomas*, *Acinetobacter*, *Stenotrophomonas*, *Stomatococcus* and *Corynebacterium* species, only a 1 to 2 log reduction was observed after 2 hours, and there was no further reduction.

Figure 4a: Results of chlorine resistance tests

Figure 4b: Results of chlorine resistance tests

Next, chlorine resistance of microorganisms identified from the same sampling point of production (Kútgépház 1), but taken at different times, were tested, again using a chlorine concentration of 10 mg/L, and a maximum of 6 hour exposure time (**Figure 5**). Based on this experiment, the desired 5 log reduction was already achieved after 2 hours for all bacteria tested.

Figure 5: Results of chlorine resistance tests

**Figures 4 and 5** show that Gram-positive strains coming from different sampling locations gave different results (*Corynebacterium sp.*, *Micrococcus sp.*, *Staphylococcus sp.*). Chlorine resistance of the species *Corynebacterium aquaticum* showed significant differences according to the origin of the strain. A strain isolated from one point of production showed a 5 log reduction already after 2 hours (**Figure 5**), while only a 1 log reduction was observed even after 24 hours for the same strain isolated from a different point of production (**Figure 4**). Similar, but not so drastic differences were also observed for species belonging to the same genus (*Staphylococcus pasteurii*, *Staphylococcus haemolyticus*) for samples taken at different sampling locations.

## 6. Conclusions

Summarizing the results of microorganisms identified using biochemical techniques, it can be stated that the microbial communities of water production and the water supply network are different and, as a result of disinfection, colony counts in the network decreased both in terms of quantity and quality.

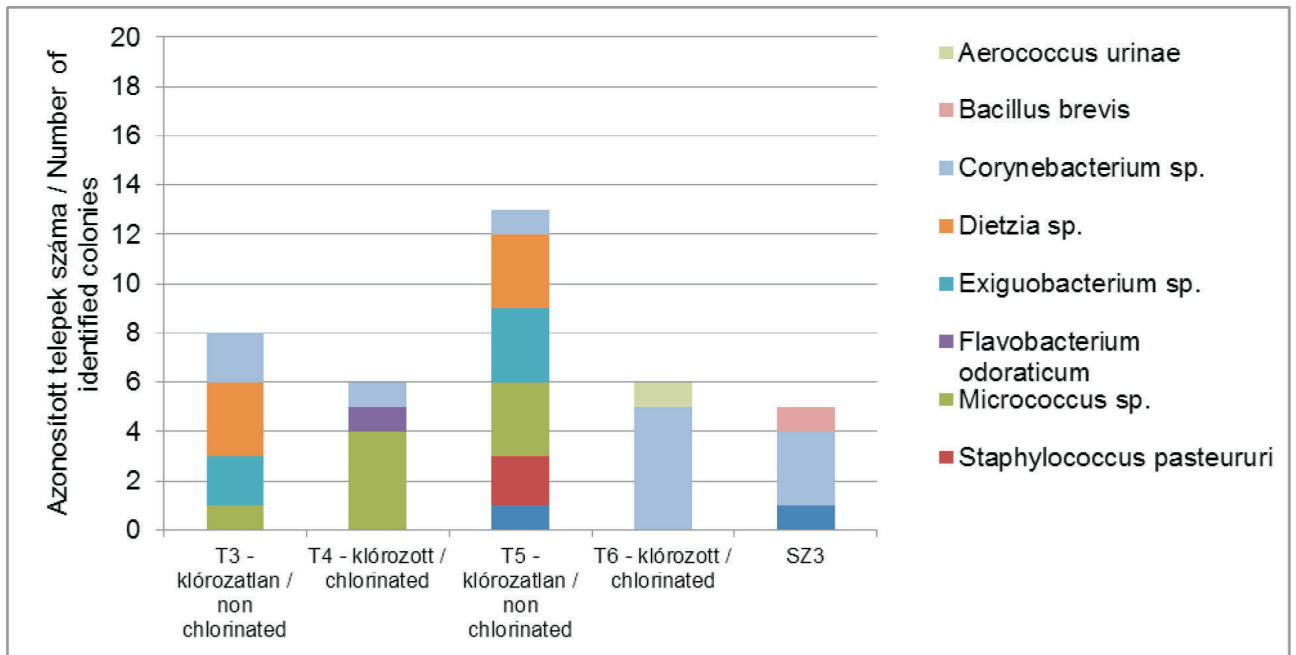
Main characteristics of the strains isolated:

- ubiquitous in nature;
- species that occur frequently in aqueous systems;
- biofilm-forming, therefore, presumably possess increased chlorine resistance;
- their public health significance is limited, i.e. they are microorganisms that are not harmful to health.

Disinfection was not always effective during chlorine resistance testing: of the 13 strains tested only 5 showed a 5 log reduction in microbial count, and only when the chlorine concentration was 10 mg/L. Therefore, to increase the safety of the drinking water supply, testing of alternative disinfection techniques is planned in the future.







2c. ábra: Mikroorganizmusok eloszlása (T: termelés/production, SZ: szolgáltatás/supplied) – 3. vízvezeték

Figure 2c: Microorganism distribution (T: termelés/production, SZ: szolgáltatás/supply) – Water line 3

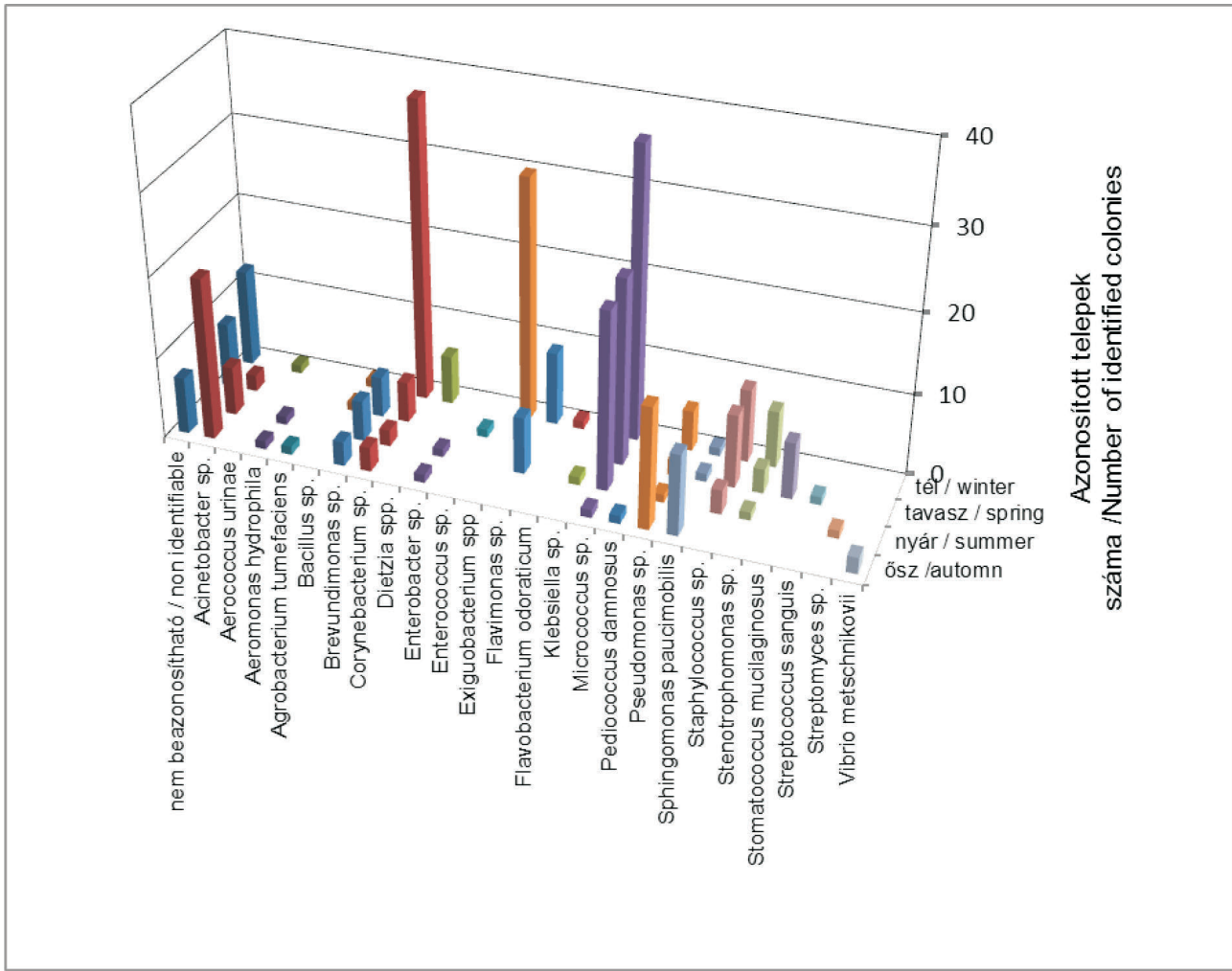
Az adatokat áttekintve látható, hogy a termelési terület és a hálózati pontok között is van különbség a közösség összetételében és az izolálható törzsek számában is. A termelési területhez képest a betáplálási pontokon és a hálózaton csökkenés tapasztalható a megjelenő telepszámok mennyiségében, illetve minőségi változás is történik. A Szentendrei-sziget keleti és nyugati ágának összehasonlításából pedig kitűnik, hogy a nyugati ágon több fajta mikroorganizmus jelent meg, így itt változatosabb az egyes mintavételi helyek mikrobaközössége.

A következtetések levonásakor azonban mindenképpen figyelembe kell venni, hogy az egyes mintáknál a táptalajon megjelenő telepekből nem azonos számú telep került azonosításra és az átoltások során egyes telepek életképtelenné váltak. Így az eredményekből átfogó következtetések helyett csak feltételezések vonhatók le, amelyek szerint nagy valószínűséggel eltérő mikrobaközösségek fordulnak elő a termelési

és a hálózati területeken.

Az **évszakos különbséget** megvizsgálva a *Corynebacterium sp.*, *Micrococcus sp.* és *Pseudomonas sp.* fajok nemcsak területi megoszlásban voltak mindenhol jelen, hanem minden évszakban megjelentek (**3. ábra**). A gyakran azonosított *Acinetobacter* és *Brevundimonas* - a tél kivételével -, a *Staphylococcus* és *Stenotrophomonas* genus tagjai - pedig az ős kivételével -, szintén minden évszakban megfigyelhetők voltak. Egyes mikroorganizmusoknál (*Aerococcus*, *Agrobacterium*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Streptomyces*, *Vibrio*) azonban a szezonális változások nem értelmezhetők ritka előfordulási arányuk miatt. Bizonyos törzsek szezonális változást is mutattak, így a *Micrococcus sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Corynebacterium sp.* téli-tavaszi időszakban dominált, majd jelenlétük nyártól ősre egyre csökkent. Ugyanakkor az *Acinetobacter sp.* jól szemlélteti az előfordulási gyakoriság növekedését téltől ős felé haladva.





3. ábra: Mikroorganizmusok szezonális eloszlása

Figure 3: Seasonal distribution of microorganisms

A telepekből identifikált törzsek, nemzetségek tulajdonságait több szempontból is megvizsgáltunk, így Gram-tulajdonságukat, amelynek jelentősége a baktérium sejtfalának felépítésében rejlik, ez utóbbi a baktérium sejt mechanikai védelmére, ellenálló képességére utal. Mérési eredményeink alapján a telepek 59%-ban Gram-pozitív (főként *Micrococcus sp.*, *Corynebacterium sp.*), 33%-ban Gram-negatív (*Acinetobacter sp.*, *Flavimonas sp.*, *Pseudomonas sp.*) baktériumok voltak, és arányuk szezonálisan változott. A tévégi és tavaszi időszakban 83%-ban a Gram-pozitívak domináltak, nyáron az arány kiegyenlítetté vált, míg az októberi, novemberi minták alkotóit 91%-ban már Gram-negatív baktériumok adták.

Az identifikált fajok túlnyomó többsége biofilmképző hajlammal rendelkezik, amely a mikroorganizmusok számára védelmet nyújt a fertőtlenítőszerrel szemben, és akár tápanyaghiányos viszonyok között is biztosítja a túléléshez szükséges kedvező mikroökoszisztémát.

A vizsgált baktériumok közegészségügyi jelentőségéről általánosan az mondható el, hogy vízeredetű fertőzést nem okoznak. Néhányuk virulencia faktor hordozói lehetnek, de közvetlenül nincs humán egészségügyi hatásuk. Opportunista patogénekként ugyanakkor a heterotróf flóra tagjai, mint pl. a *Pseu-*

*domonasok* kockázatot jelenthetnek időseknél, kórházi betegeknél, legyengült immunrendszerű egyéneknél és kisgyerekeknél. Azonban infektív dózisuk általában magas,  $10^6$ - $10^{10}$  sejtet jelölnek a szakirodalomban [7].

#### 4.2. Klórrezisztencia-vizsgálatok eredményei

A fertőtlenítési módszer hatékonyságának optimalizálása érdekében a vizsgált mintákban leggyakrabban előforduló mikrobákat klórrezisztencia-vizsgálatnak vetettük alá.

Csak klórozatlan területről származó törzseket vizsgáltunk, amelyek általában különböző mintavételi helyekről és időben is különböző mintákból származtak. Kezdetben több klórkoncentráció is kipróbáltunk, azonban az 1, illetve 2 mg/L klórkoncentrációk csak 1 log baktériumszám-csökkenést (90%-os hatékonyság) eredményeztek, amely már a kísérlet 1. órájában jelentkezett és további csökkenés nem volt megfigyelhető.

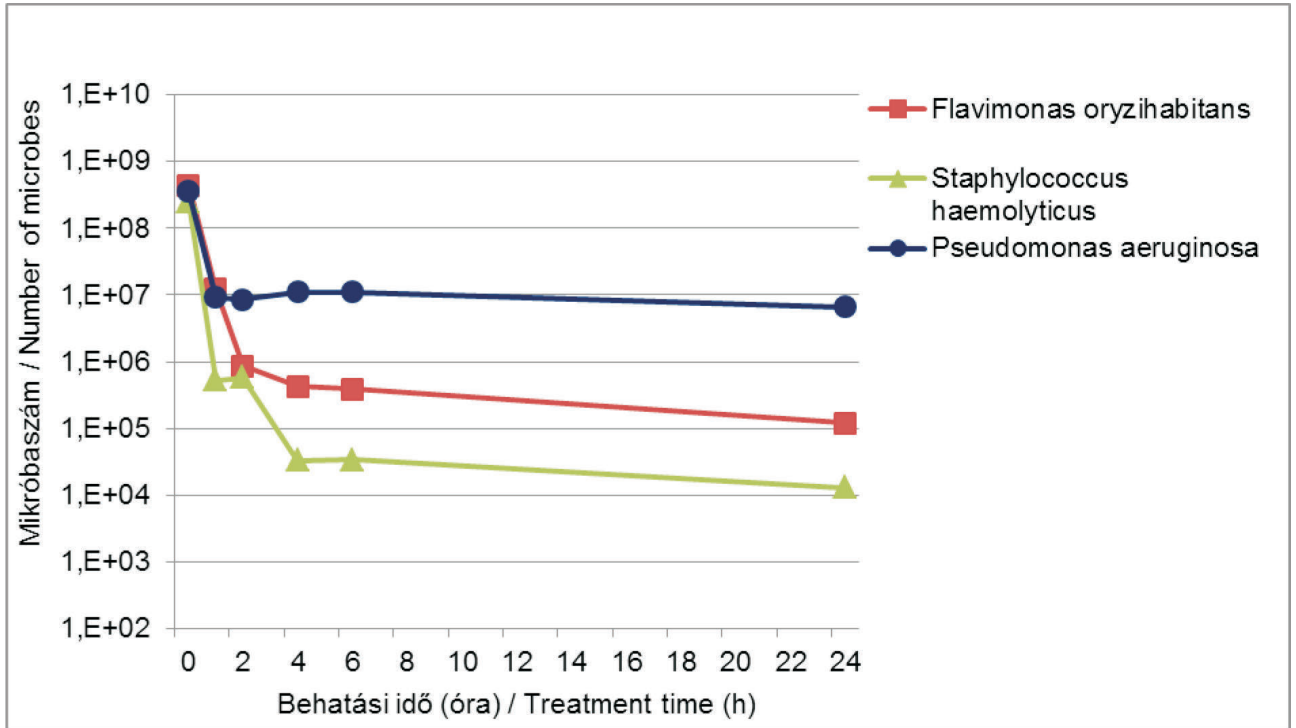
Így a továbbiakban a 10 mg/L klórkoncentráció és 2, 4, 24 óra behatási idők mellett kerültek elvégzésre a rezisztencia vizsgálatok (4.a, 4.b ábrák). Főként olyan mikroorganizmusokat választottunk, amelyek gyakran előfordultak a rendszerünkben, és a szakirodalom kevés információt ad a fertőtlenítőszerrel szembeni ellenálló képességükről, illetve a termelés

klórozatlan területeiről származtak. Esetükben az alábbi hatékonyságú fertőtlenítést értük el:

- 5 log értékű csökkenés *Micrococcus sp.* esetén a vizsgálat 4. órájában;
- 4 log értékű csökkenés *Staphylococcus sp.* és *Brevundimonas sp.* esetén 24 óra alatt;
- 3 log értékű csökkenés *Flavimonas sp.* ese-

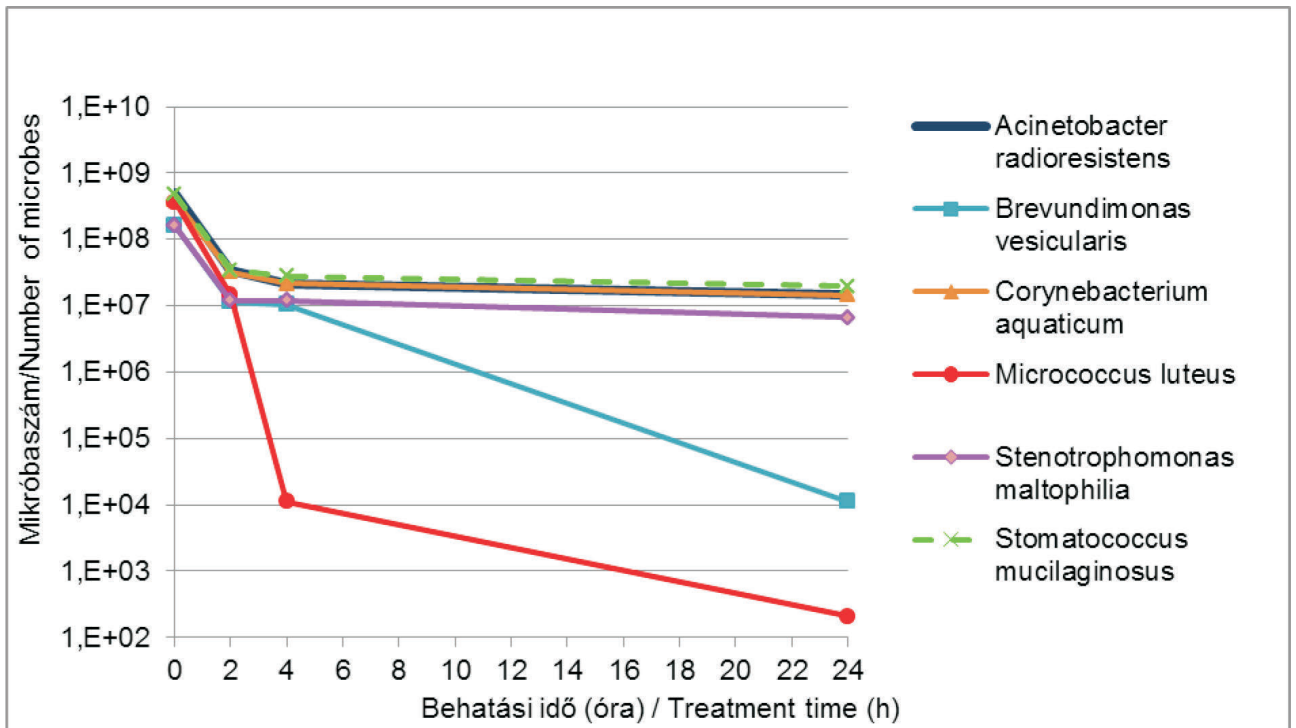
tén 24 óra alatt;

- *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Stenotrophomonas*, *Stomatococcus* és *Corynebacterium* fajoknál ezzel szemben mindössze 1-2 log csökkenés következett be a kísérlet 2. órájában, és további csökkenés nem volt tapasztalható.



4a. ábra: Klórrezisztencia-vizsgálatok eredménye

Figure 4a: Results of chlorine resistance tests



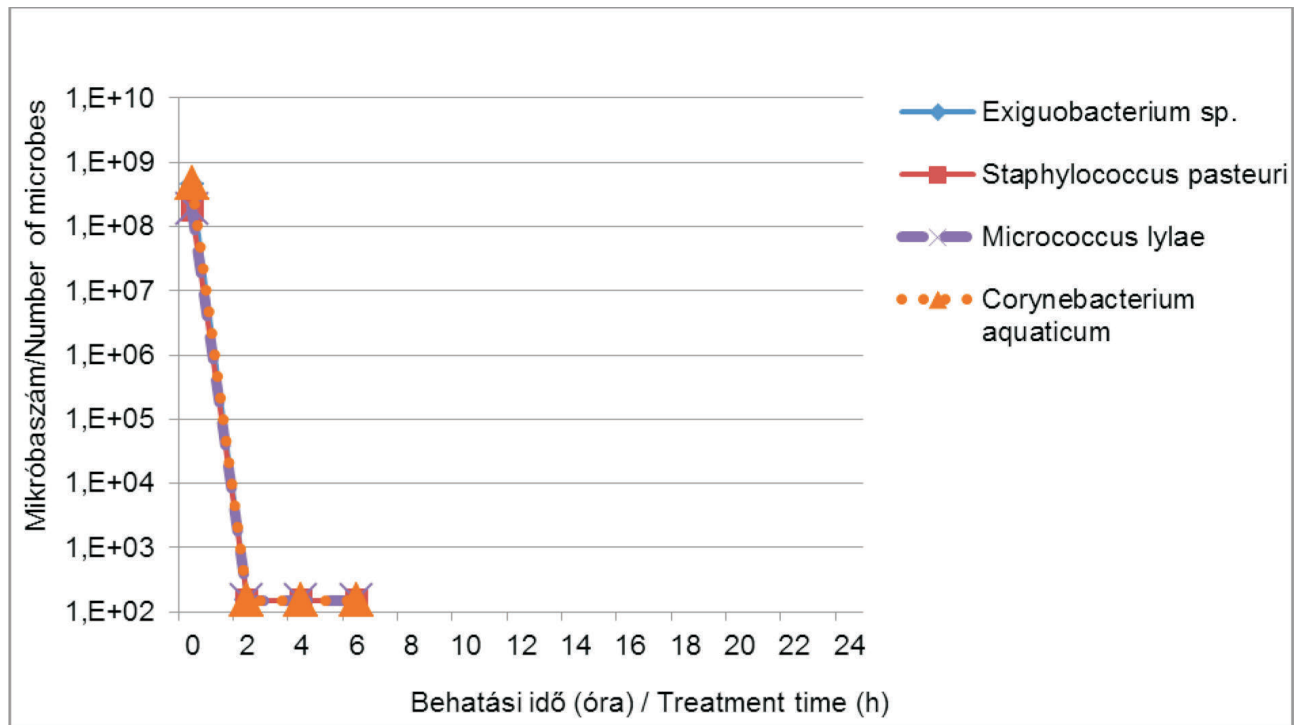
4b. ábra: Klórrezisztencia-vizsgálatok eredménye

Figure 4b: Results of chlorine resistance tests



A következőkben a termelés egyazon mintavételi pontjáról (Kútgépház 1) – de két időpontból származó mintából – azonosított mikroorganizmusok klórrezisztenciáját teszteltük szintén 10 mg/L klórkon-

centrációval, a behatási időt 6 órában maximálva (**5. ábra**). A kísérlet alapján az itt vizsgált összes baktériumnál már a 2. órában elértük a kívánt 5 log értékű csökkenést.



5. ábra: Klórrezisztencia vizsgálatok eredménye

Figure 5: Results of chlorine resistance tests

Az **4. és 5. ábráról** leolvasható, hogy más-más mintavételi helyről származó Gram-pozitív törzsek esetén eltérő eredményt kaptunk (*Corynebacterium sp.*, *Micrococcus sp.*, *Staphylococcus sp.*). A *Corynebacterium aquaticum* faj klórrezisztenciája jelentős különbséget mutatott a törzs származási helye szerint is. A termelés egyik pontjáról izolált törzs már 2 óra után 5 log értékű csökkenést mutatott (**5. ábra**), míg ugyanennél a törzsnél a termelés egy másik pontján 24 óra elteltével is csak 1 log értékű csökkenés volt tapasztalható (**4b. ábra**). Hasonló, bár nem ilyen mértékű eltérést tapasztalhattunk azonos nemzetségbe tartozó fajoknál is (*Staphylococcus pasteurii*, *Staphylococcus haemolyticus*) különböző mintavételi pontokról származó mintáknál.

## 5. Következtetések

A biokémiai technikával azonosított mikroorganizmusok eredményeit összegezve megállapítható, hogy a víztermelés és a vízhálózat mikrobaközössége különbözik, és a fertőtlenítés hatásaként, a telepszámok mennyiségében, illetve minőségében egyaránt csökkenés tapasztalható a hálózaton.

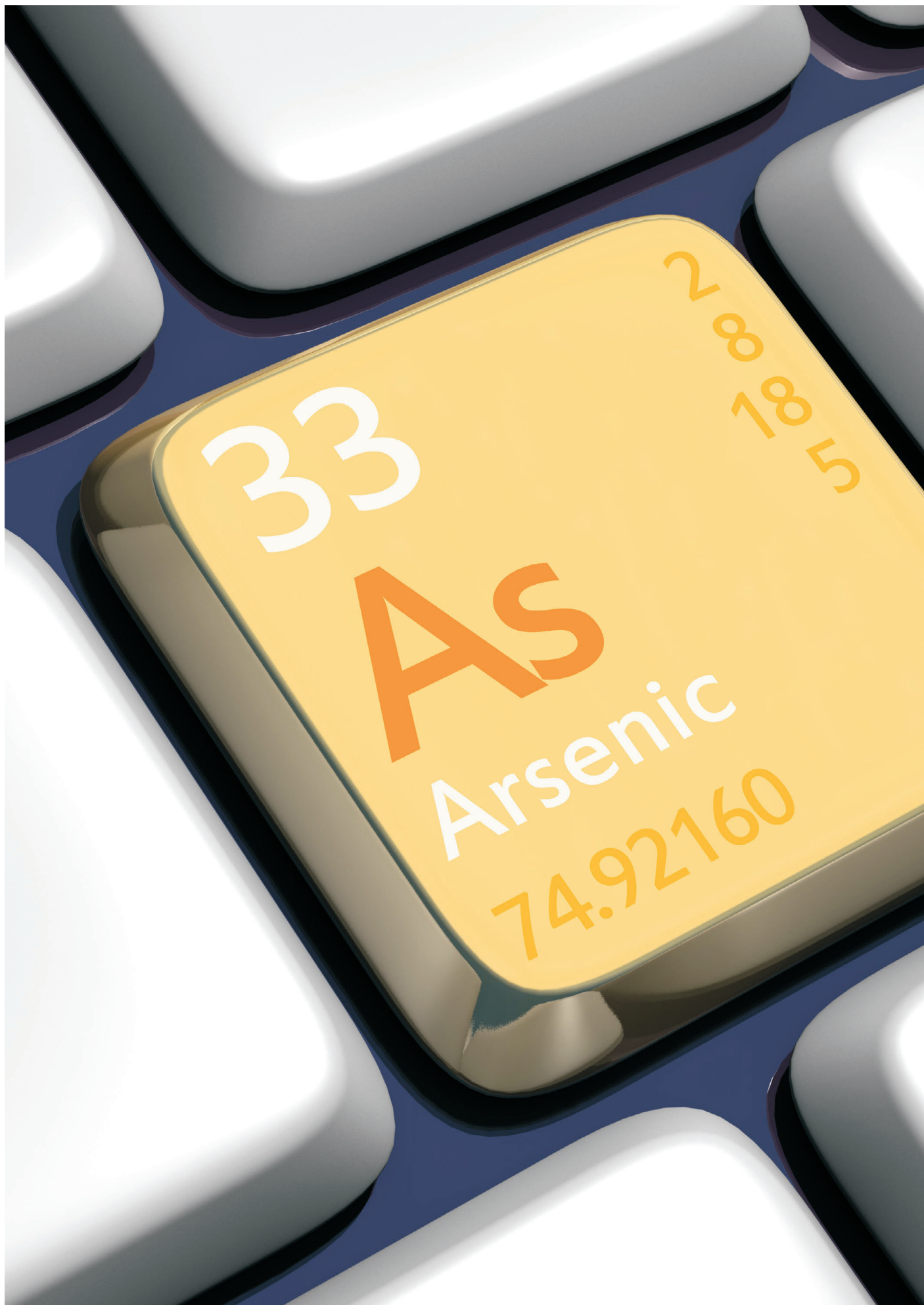
Az azonosított törzsekre vonatkozó fontosabb jellemzők:

- ubiquiterek, azaz a természetben mindenütt előfordulnak;
- vizes rendszerekben is gyakran megjelenő fajok;
- biofilmalkotók, így feltételezhetően megnövekedett klórrezisztenciával rendelkeznek;
- közegészségügyi jelentőségük limitált, azaz az egészségre nem káros mikroorganizmusok.

A klórrezisztencia vizsgálatok során nem minden esetben volt hatékony az alkalmazott fertőtlenítés: 13 törzsből csak 5 esetén és kizárólag 10 mg/L klórkoncentráció mellett volt 5 log a mikrobaszám csökkenés. Ezért az ivóvíz-szolgáltatás biztonságának emelése érdekében alternatív fertőtlenítési technikák kipróbálását tervezzük a jövőben.

## 7. Irodalom/References

- [1] Öllős, G. (1998): Víz tisztítás – üzemeltetés. Egre Nyomda Kft.
- [2] 201/2001 (X.25.): Kormányrendelet az ivóvíz minőségi követelményeiről és ellenőrzés rendjéről
- [3] Bartram, J., Cotruvo, J., Exner, M., Fricker, C., Glasmacher, A. (2003): Heterotrophic plate counts and drinking-water safety: The significance of HPCs for water quality and the human health. WHO.
- [4] Chowdhury S. (2012): Heterotrophic bacteria in drinking water distribution system: a review. Environ Monit Assess 184, 6087-6137.
- [5] <http://www.wqa.org> (Hozzáférés: 2014. 04.30.)
- [6] Le Chevallier M.W., Cawthorn C.D., Lee R.G (1988): Factors promoting survival of bacteria in chlorinated water supplies. Appl. Environ. Microbiol. 54, 649-654.
- [7] Rusin, P.A., Rose J.B., Gerba C.P. (1997): Health significance of pigmented bacteria in drinking water. Water Science and Technology 35, 21-27.
- [8] MSZ EN ISO 6222:2000 Vízminőség. Tenyészthető mikroorganizmusok számának meghatározása. Telepszám-meghatározás agar táptalaj beoltásával
- [9] MSZ EN 1276:2010 Kémiai fertőtlenítőszeres és antiszeptikumok baktériumölési hatékonyságának értékelésére



Sugár Éva<sup>1</sup>, Mihucz Viktor Gábor<sup>2</sup>, Záray Gyula<sup>2</sup>

Érkezett/Received: 2014. március/March – Elfogadva/Accepted: 2014. április/April

## Arzénvizsgálatok ivóvízből és élelmiszerekből

### Összefoglalás

Az ivóvíz arzéntartalma közösségi jogi szabályozás szerint az Európai Unióban legfeljebb 10 µg/L lehet. Ezzel szemben a magyar szabályozás által megengedett arzénkoncentráció az harmonizáció előtt 50 µg/L volt. A szerzők dolgozatukban azt vizsgálták, hogy az EU által előírt, az egykori magyar szabályozásnál jóval szigorúbb ivóvízes arzén határérték indokolt-e a hazai ivóvíz- és élelmiszerfogyasztás adatainak ismeretében. Ebből a célból Békés, Bács-Kiskun, Csongrád és Pest megyéből származó ivóvízminták arzéntartalmát elemezték, amelyet kilenc, fontosabb élelmiszercsoport arzénkoncentrációjának mérésével egészítettek ki oly módon, hogy az élelmiszerek előállításához használt ivóvíz arzéntartalmát is meghatározták. Ezen felül két olyan, jellemzően magyar menüt állítottak össze, amely az ajánlott napi 2000 kcal energia bevitelét biztosítja. Kutatásaik során, e két menü révén a szervezetbe jutó arzén mennyiségét is meghatározták.

Az arzén élettani hatása az elem kémiai módosulatától függ. A szerves formában lévő arzén jellemzően toxikusabb, mint a szerves forma, ezért a víz- és az élelmiszerminták arzénmódosulait ioncserén alapuló töltött oszlopon és HPLC-ICP-MS csatolt technikával vizsgálták. Ilyen módon nemcsak a minták összes arzéntartalmát mérték meg, hanem meghatározták a minták arzéntartalmának különböző kémiai formáit is. Így pontosabb képet kaptak egy átlagos magyar étrendre jellemző kockázatról is, amely a hazai az ivóvíz és élelmiszer-fogyasztásból származik.

A szerzők dolgozatukban arra a megállapításra jutottak, hogy Magyarországon az egykori, 50 µg/L-es ivóvíz-határérték mellett sem jelentett az élelmiszereken keresztül az emberi szervezetbe jutó arzén számottevő közegészségügyi kockázatot.

### Bevezetés

Az arzén különös és ellentmondásos tulajdonságai miatt már nagyon régóta foglalkoztatja az emberiséget. Az arzén különböző formái eltérő élettani hatásúak. A legveszélyesebb méregtől az ártalmatlan arzénvegyületekig előfordulhat, de ismeretes gyógy- és roboráló hatása is. Valószínűsíthető esszenciális jellege, de a mérgező hatása a jellemzőbb. A szerves arzénvegyületek általában mérgezőbbek a szerves arzénvegyületeknél a tetrametil-arzóniumion kivételével. A toxicitás a metilcsoportok számával csökken (**1. táblázat**) [1].

Az arzénvegyületek toxikus hatása azzal magyarázható, hogy az arzén(III) a fehérjék –SH csoportjával kovalens kötésbe lép, így a szulfhidrilcsoportokat tartalmazó enzimek működését gátolja. Az ötértékű arzénvegyületek (As(V)) kevésbé mérgezőek, mint az As(III)-vegyületek. Bizonyos mikroorganizmusok elő-

segítik az As(V) → As(III) redukcióját, illetve metilezési folyamatokon keresztül kevésbé toxikus szerves arzénvegyületeket állítanak elő [2].

Az emberi szervezetbe bejutó arzén mennyiségének jelentős részét az elfogyasztott ivóvíz és élelmiszer együttesen adja, de beléggzéssel és a bőrön keresztül is felszívódhat. Az expozíció földrajzilag, valamint a társadalmi és egyéni szokások szerint eltérő lehet.

Az európai uniós csatlakozással Magyarországnak számos új európai jogszabálynak kellett megfelelnie. Az egyik ilyen jogszabály a 98/83/EK irányelv, amely 2003. december 25-i hatállyal előírja az ivóvizekben az arzén 10 µg/literes határértékét [3].

A Kárpát-medence geológiai adottságai miatt az alföldi ivóvízkutak mintegy harmada 15 µg/l fölötti arzéntartalmú vizet ad. Magyarország a csatlakozási szerződéskor 2009. december 25-ig haladékat ka-

<sup>1</sup> Magyar Tudományos Akadémia Titkársága, Kutatóintézeti Főosztály (1051 Budapest Nádor u. 7.)

<sup>1</sup> Secretariat of the Hungarian Academy of Sciences, Department of Research Institutes (1051 Budapest Nádor u. 7.)

<sup>2</sup> Eötvös Loránd Tudományegyetem, Kémiai Intézet (1117 Budapest Pázmány P. sétány 1/A)

<sup>2</sup> Eötvös Loránd University, Institute of Chemistry (1117 Budapest Pázmány P. sétány 1/A)



pott, de sajnos így sem sikerült e kötelezettségének teljes mértékben megfelelni, ezért 2013. január else-

jétől a honvédelmi alakulatok biztosítják az érintett területeken az ivóvízellátást.

1. táblázat: Egyes arzénvegyületek LD<sub>50</sub> értékei [4], [5], [6]  
(Az LD<sub>50</sub> az a g vizsgált anyag/testtömegben kifejezett dózis, amelynél a kezelt állatok fele elhullik.)

Table 1: LD50 values of certain As compounds [4], [6]  
(LD50 is the dose, expressed as the amount of toxin per kilogram of body weight, required to kill 50% of a given test population.)

Vegyület	LD <sub>50</sub> [g/kg]	Vegyület	LD <sub>50</sub> [g/kg]
Arzenit	0,035	Tetrametil-arzónium -ion(TeMA)	0,89
Arzenát	0,02-0,80	Trimetil-arzin- oxid (TMAO)	10,6
Monometil-arzonát (MMA)	1,8	Arzenokolin (AC)	>6,5
Dimetil-arzinát (DMA)	1,2	Arzenobetain (AB)	>10,0

Az Egészségügyi Világszervezet (WHO) 2010-ben készült útmutatásában az arzénra vonatkozó BMDL<sub>0,5</sub><sup>1</sup> szintet 3,0 µg/testtömeg-kg/nap arzénban határozta meg. Ez azt jelenti, hogy ez a dózis 0,5%-kal növeli meg a tüdőrák előfordulásának kockázatát [7].

#### Arzénmódosulatok vizsgálata HPLC-ICP-MS csatolt technikával

Bizonyos élelmiszerek, jellemzően a halak, de a rizs is tartalmazhat nagyobb koncentrációban arzént. Míg az ivóvízben főleg szerves arzénvegyületek fordulnak elő, addig a növényi és állati eredetű élelmiszerekben inkább szerves módosulatokat találunk. Ennek az az oka, hogy az élő szervezetek védekezésképpen szerves burokba „csomagolják” az arzént, így az elveszti erősen toxikus tulajdonságait. Az élelmiszerek arzéntartalma, ill. a módosulatok összetétele a tárolási és hőkezelési körülményektől függően változhat. Devesa és munkatársai vizsgálatai megmutatták, hogy tárolás során főként a mikrobiológiai folyamatok következtében, főzés során pedig a termikus folyamatok, a víztartalom megváltozása és az illékony komponensek távozása miatt, mind az összes arzénkoncentráció, mind a módosulatok összetétele akár szignifikánsan is változhat.

A halak esetében például a sütési hőmérsékleten a szerves arzénvegyületek közül az arzenobetain (AB) más szerves és szervesetlen komponensekké alakul át a hőmérséklet és az idő függvényében [8].

A kiugróan (a legrosszabb esetre kalkulálva) nagy arzéntartalmú élelmiszerek esetében szükséges meggyőződni az élelmiszerekben található arzénmódosulatokról. Az általános és rutinszerű arzénvizsgáló módszerek atomspektroszkópiai módszerek, amelyekből csak az összes arzénkoncentrációra kapunk információt, és nem a valós veszélyt jelentő szerves arzénvegyületekre. Az arzénvegyületek szelektív meghatározására alkalmazható a HPLC-ICP-MS-csatolás, ahol a HPLC-készülékkel a vegyületek szétválasztását, az ICP-MS-készülékkel pedig azok kimutatását és mennyiségi meghatározását végezzük.

Vizsgálataink során módszert dolgoztunk ki élelmiszerek arzén-speciációjára. Így például 2,5 g halmi-

ntát 10 ml desztillált vízzel extrahálva (50 ml-es centrifugacsőben 2 órára 50 °C-on ultrahangos fürdőben kezelve), centrifugálás után (20 perc, 2000 rpm) a felülúszót Eppendorf-csőbe töltjük át. Rizsliszt esetében enzimes extrakciót végeztünk. 0,5 g mintát 50 ml-es centrifugacsőben 10 ml 0,1 M ammónium-bikarbonát-oldatban (pH= 7,2/6 M ecetsav-oldattal) és 0,1 g α-amiláz enzimmel első lépésben 37 °C-on egy éjszakán keresztül rázatva, majd 10 ml 50% metanolos oldattal 1,5 órán ultrahangos fürdőben, szobahőmérsékleten extraháltunk. A metanolos extrakciót kétszer megismételve, centrifugálás (4000 rpm/10 min) után, a felülúszókat összegyűjtve, a mintákat nitrogénáram alatt beszárítottuk, majd a térfogatot 20 mM ammónium-karbonát oldattal 25 ml-re egészítettük ki. A kromatográfiás szétválasztást gradiens elúcióval végeztük Thermo Finnigan Surveyor HPLC-készüléken végeztük ammónium-karbonát eluens (20 és 200mM)és Hamilton PRP 100-as anioncserélő oszlop használatával.

A mérési eredmények igazolására a BCR 627 hitelesített anyagmintát (CRM) használtunk. A visszanyerés AB-ra 90%, a DMA-ra 115% és az összes arzénra 91% volt. **(1-3. ábra)**

<sup>1</sup> „Benchmark dose limit”

# Determination of arsenic in drinking water and several food items

Éva Sugár<sup>1</sup>, Viktor Gábor Mihucz<sup>2</sup>, Gyula Záray<sup>2</sup>

## Summary

According to community regulation, the arsenic content of drinking water in the European Union cannot exceed 10 µg/L. However, before harmonization, the allowable arsenic concentration according to Hungarian regulation was 50 µg/L. The authors of this study investigated whether it is justified, in view of domestic drinking water and food consumption data, to apply arsenic limits prescribed by the EU, that are much stricter than the former Hungarian regulation. For this reason, arsenic content of drinking waters from Békés, Bács-Kiskun, Csongrád and Pest counties were analyzed, and this was supplemented by the measurement of the arsenic concentration of nine major food groups in a way that arsenic concentration of the drinking water used for the manufacture of the foods was also determined. In addition, two characteristically Hungarian menus were created, containing the recommended daily energy intake of 2000 kcal. During the study, the amount of arsenic entering the human body when consuming these menus was also determined. The toxic effect of arsenic depends on their chemical form. Inorganic forms of arsenic are significantly more toxic than organic ones, therefore, to identify arsenic forms in water and food samples, for determination of species ionexchanged filled column and coupled HPLC-ICP-MS technique were applied. This way, not only the total arsenic content of the samples was determined, but also the distribution of the arsenic content between the different chemical forms. Thus, a more accurate picture could be formed about the risk characteristic of the average Hungarian diet, due to domestic consumption of drinking water and foods. The conclusion reached by the authors of this report was that arsenic entering the human body with foods did not pose a significant public health risk in Hungary, even when the drinking water limit value was 50 µg/L.

## Introduction

Because of its special and controversial properties, arsenic (As) has received a lot of attention throughout the history of mankind. Different chemical forms of As have diverse physiological effects. Some of them are extremely potent poisons; some are harmless As compounds, and, finally, some have medicinal and corroborative effects. Its essentiality is likely, but its toxic effects are more characteristic. Inorganic As compounds are usually more toxic than organic ones, with the exception of the tetramethylarsonium ion. Toxicity decreases with a decreasing number of methyl groups (**Table 1**) [1].

Toxic effect of the trivalent As compounds (As(III)) can be explained by the fact they form covalent bonds with the -SH group of proteins, thus inhibiting the enzymes containing sulfhydryl groups. Pentavalent As compounds (As(V)) are less toxic than As(III). Reduction of As(V) to As(III) is facilitated by certain microorganisms or producing less toxic organic As compounds via methylation processes [2].

A significant part of the As entering the human body comes from the drinking water and food ingested but it can also be absorbed by inhalation or through the skin. Exposition may depend on geographical factors as well as on social or personal habits.

After the accession to the European Union, Hungary has

to comply with several new European regulations. One of these is prescribed by European Commission (EC) through Directive 98/83, establishing a limit value of 10 µg/L for As in drinking water, in force since December 25, 2003 [3].

Due to the geological properties of the Carpathian Basin, about one third of the drinking water wells in the Great Hungarian Plain supply water with As concentrations over 15 µg/L. When accessing the EU, Hungary was granted derogation until December 25, 2009 but, unfortunately, compliance was still not fully achieved, therefore, starting from January 1, 2013, drinking water is supplied by the defense forces in the affected areas.

*Table 1: LD<sub>50</sub> values of certain As compounds [4], [6]*

*(LD<sub>50</sub> is the dose, expressed as the amount of toxin per kilogram of body weight, required to kill 50% of a given test population.)*

In the 2010 guideline of the World Health Organization, a BMDL<sub>0.5</sub><sup>1</sup> level of 3.0 µg/kg body weight per day for As was determined. This means that this dose increases the incidence of lung cancer by 0.5% [7].

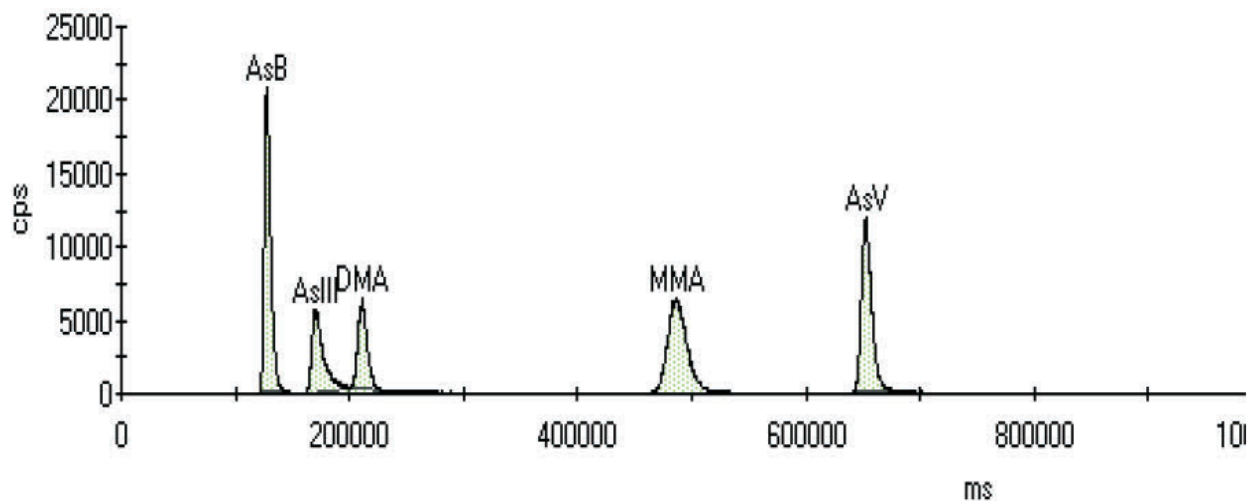
## Determination of As species by HPLC-ICP-MS

Certain foods, typically fish but also rice, can contain As in higher concentrations. While drinking water contains mainly inorganic As compounds, more of the organic As species are found in foods of plant and animal origins. The reason for this is that arsenic is „packed” in an organic wrapping by living organisms, thus decreasing its high toxicity. Arsenic content of foods and the composition of the As species As species may vary, depending on storage and heat treatment conditions. *Devesa et al.* showed that both total As concentration and the composition of the As species As species can change significantly during storage, mainly due to microbiological processes, and also during cooking, due to thermal processes, changes in water content and elimination of volatile components. In the case of fish, for example, one of the organic As compounds, arsenobetaine (AB), is transformed into other organic and inorganic compounds at the cooking temperature, depending on the temperature and the cooking time [8].

It is necessary to identify As species in the case of foods with remarkably high As concentrations (considering the worst case scenario). Generally and routinely used methods for As determination use atomic spectroscopy, suitable only for the determination of total As concentration, and not for the quantification of inorganic As compounds posing the real threat. For selective determination of As compounds, high performance liquid chromatography hyphenated to inductively coupled plasma mass spectrometry (HPLC-ICP-MS) can be used, where separation of the compounds is performed by the HPLC instrument, while their detection and quantification is achieved by the ICP-MS instrument.

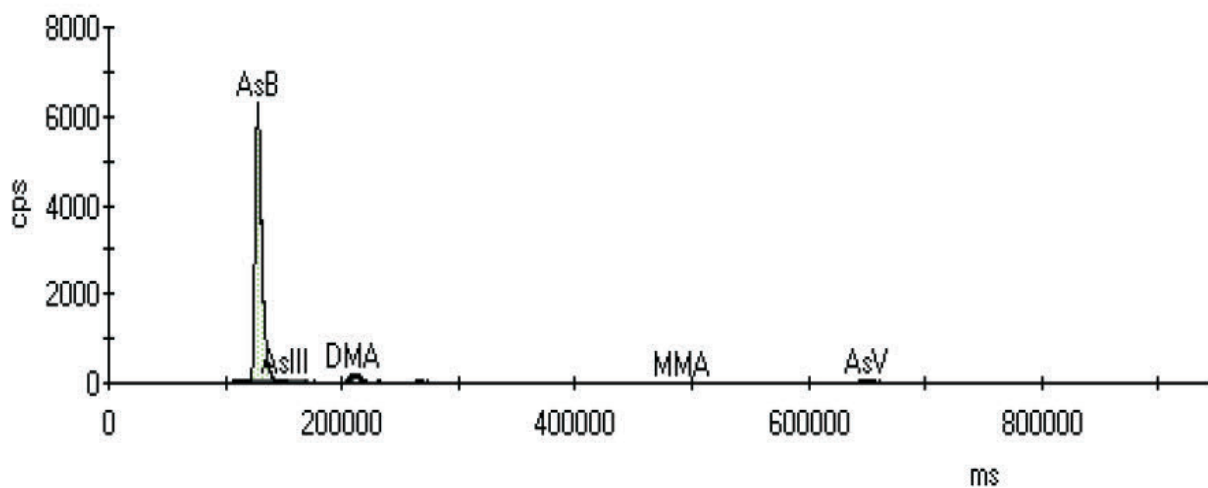
In this study, a method was developed for the As speciation of foods. For example, a sample of fish (2.5 g) was extracted with distilled water (10 mL in a 50 mL centrifuge tube) for 2 h at 50 °C in an ultrasonic bath. Then, the sample was centrifuged (20 minutes at 2000 rpm) and the supernatant was transferred to an Eppendorf tube. In the case of rice flour, enzymatic extraction was performed. The sample (0.5 g) was first shaken overnight at 37 °C in a 50 mL centrifuge tube with 10 mL of 0.1 M ammonium bicarbonate solution (pH= 7.2/6 M acetic acid) and 0.1 g α-amylase, and then it was extracted with 50% methanol (10 mL) for 1.5 h at room temperature in an ultrasonic bath. Methanolic extraction was repeated twice, the supernatants were pooled after centrifugation (4000 rpm/10 min), the solvent was evaporated in a nitrogen stream, and the volume was made up to 25 mL

<sup>1</sup> „Benchmark dose limit”



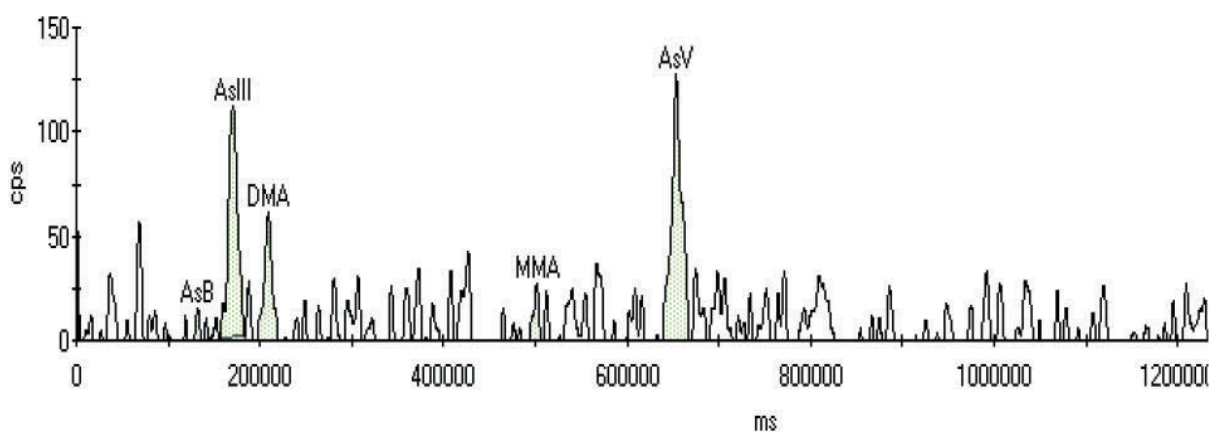
1. ábra: Standard oldat As-spektruma

Figure 1: HPLC-ICP-MS chromatogram of an As standard solution



2. ábra: Tonhalminta As-spektruma

Figure 2: HPLC-ICP-MS chromatogram for As in a tuna sample



3. ábra: Rizsminta As-spektruma

Figure 3: HPLC-ICP-MS chromatogram for As in a rice sample



by the addition of 20 mM ammonium carbonate solution. Chromatographic separation was performed by gradient elution on a Thermo Finnigan Surveyor HPLC instrument using ammonium carbonate eluent (20 mM and 200 mM) and a Hamilton PRP 100 anion exchange column.

To check analytical results, a BCR 627 certified reference material (CRM) was used. Recovery for AB, for DMA and for total arsenic was 90%, 115% and 91%, respectively (**Figures 1-3**).

#### International proficiency testing

The Central Agricultural Office (Mezőgazdasági Szakigazgatási Hivatal Központ, MGSZHK), as a European Union reference laboratory, participated in the ICP-MS proficiency testing scheme called International Measurement Evaluation Programme IMEP-107, organized in 2010 by the Joint Research Centre Institute for Reference Materials and Measurements (JRC IRMM), including not only the determination of total As concentration, but also the determination of inorganic As content. Using the aforementioned method, results were given by subtracting the sum of organic As measured from the total As concentration ( $0.138 \pm 0.044$  mg/kg; Z-score=2.00<sup>2</sup>). Results of participating laboratories are shown in **Figure 4**, where the result of the ICP-MS analysis performed at MGSZHK is the one with code number 24 [9].

*Figure 4: Results of proficiency testing program IMEP-107 on the determination of inorganic arsenic (MGSZHK code number: 24) [9]*

#### Drinking water – As speciation in public water wells using on-site ion exchange separation

Nowadays, the greatest problem concerning drinking water quality in Hungary is posed by As leaching into drinking water from aquifers.

For As species mapping of drinking waters of the Great Hungarian Plain, twenty-three water samples were collected from the public water wells of Bács-Kiskun, Békés and Csongrád counties, as well as the resort area around Budapest in order to determine their As(III) and As(V) species content. Interconversion of the As species was prevented by passing the samples through cartridges filled with solid phase ion exchange resin on-site (**Figure 5**). Samples treated this way were shipped to the laboratory in cooling boxes, where they were analyzed using a high resolution inductively coupled plasma mass spectrometer (HR-ICP-MS). In twenty-two cases, the total As concentration of the sample was higher than the limit value set by the European Union for drinking water (10 µg/L). Total As concentrations varied from 7.2 to 210.3 µg/L. Hydrochloric acid conditioning of the ion exchange cartridges required the use of the high resolution mode when analyzing the chromatographic fractions. However, the fractions containing As(V) could be analyzed at medium resolution. According to the results of speciation analyses, the fraction of As(V) was present in more than 60% in two thirds of the samples. In addition to determining the As(V)/As(III) ratios, information was also obtained about the geochemical environment of the samples by simultaneous HR-ICP-MS determination of oxyanion-forming elements (Mo, Se, U, V and W).

*Figure 5: Separation scheme for As speciation of drinking waters*

Organic As compounds were not detected in the samples analyzed. In two thirds of the samples, As(V) represented more than 60% of the total arsenic concentration. The predominant species was As(V) in Békés county, while As(III) in almost half of the samples from Csongrád county.

The ratio of the two arsenic species in samples originating from the different counties are shown in **Figures 6-8**.

„In-situ” separation of As(V) and As(III) is a quite simple process conferring reliable results. So far, there is no solution available for the removal of As from drinking water containing As of natural origin in concentrations exceeding the limit value that is satisfactory in all respects, and since this affects large areas, it is important to estimate the risk to the population due to the consumption of such water. As a first approximation, a picture of the total arsenic content was obtained by the investigation of wells in daily use, and then reliable separation of As compounds had to be performed on-site. Reliable on-site separation of the water sample was performed using a column filled with anion exchange resin.

*Figures 6-8: As(V)/As(III) distribution of drinking water samples from Békés, Bács-Kiskun, Pest and Csongrád counties (2012)*

According to our results, the predominant species in the samples analyzed was As(V), which poses a smaller risk than As(III) (**Figures 6-8**).

In addition to the above, in the majority of the samples coming from public water fountains, the calculated high As(V)/As(III) ratios were confirmed by the presence of the major oxyanion-forming elements. Thus, supplementary determination of oxyanion-forming elements gives more reliable results than other on-site measurements (e.g., redox potential, pH) [10].

#### Analysis of the As content of foods and water used for their processing

Almost 90% of the arsenic entering the human body originates from food and drinking water. Samples of foods and of the waters used for their processing were collected from small and medium-sized enterprises (SMEs), as well as large companies in the food industry and catering, operating in areas with high As concentrations, in February and March of 2010 by the predecessor of the National Food Chain Safety Office, the Central Agricultural Office as part of an authority inspection. The 75% of the 57 companies involved were SMEs. Sampling was extended to prepared meals, processed foods (baked goods, cold cuts, cheese etc.), some raw foods (milk, eggs, meat) and to livestock drinking water as well. A total of 67 food samples from twelve counties were analyzed (**Table 2**).

*Table 2: Classification of the foods analyzed during the 2010 inspection according to sampling location*

Liquid samples were processed by microwave-assisted nitric acid digestion, while solid samples by dry ashing. Waters and water-based samples were analyzed by ICP-MS, while ashed samples were analyzed by hydride generation atomic absorption spectrometry. In almost 75% of the 61 water samples, arsenic concentration exceeded the limit value of 10 µg/L (**Figure 9**). Arsenic concentrations of water-based samples (soups, compotes, pickles, soft drinks and alcoholic beverages) were proportional to the arsenic concentrations of the waters used for their processing (**Figure 10**).

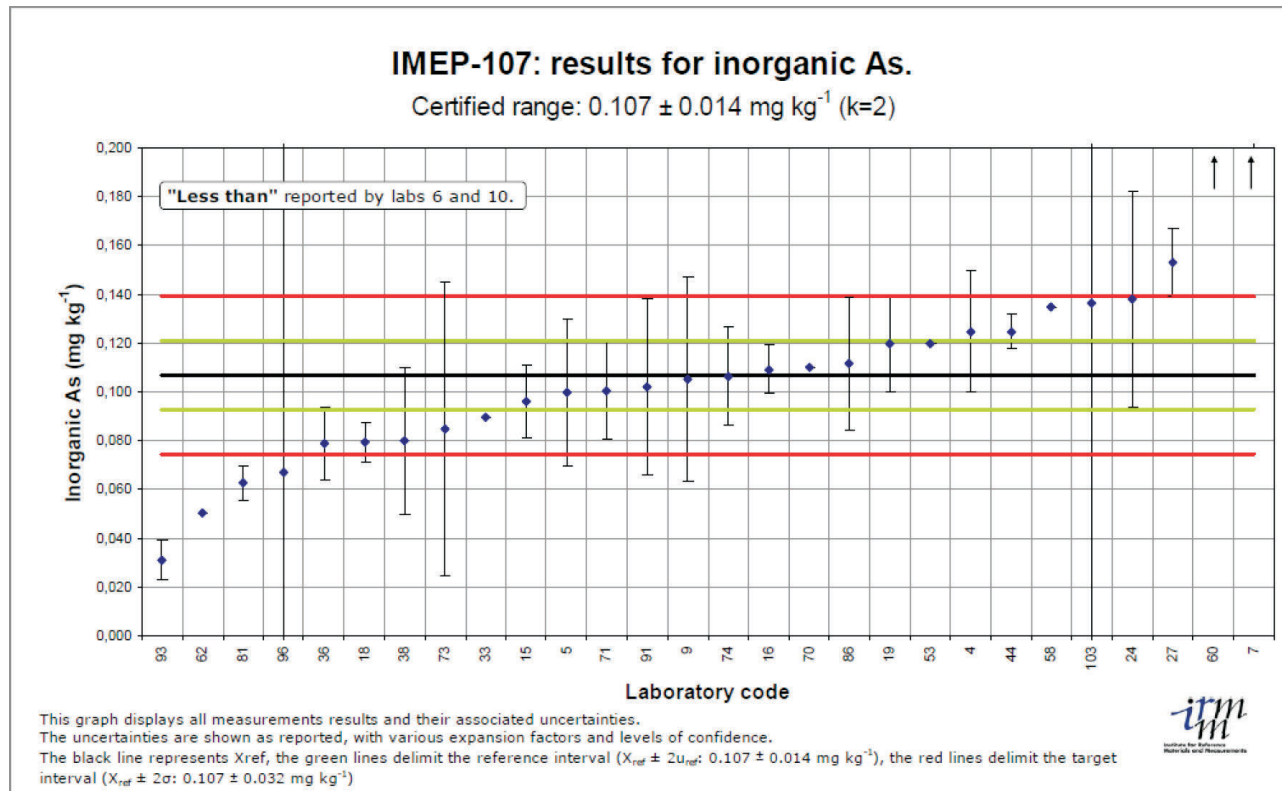
When interpreting the results of other food items, in the absence of EU legal harmonization, only Health Ministry of Hungary (EüM) decree 17/1999 (VI. 16.)<sup>3</sup> [11] can be considered. According to this, no As concentration in any of the food samples analyzed exceeded the health limit value, even when the As concentration of the water used for processing was higher than the value permitted by the authorities. Similarly to counting calories, our results can help in the planning of a diet and in controlling nutrient and arsenic intake.

<sup>2</sup> The Z-score shows how different the given analytical result is from the reference value (see in reference JRC IRMM IMEP 107).

## Nemzetközi körvizsgálat

A Mezőgazdasági Szakigazgatási Hivatal Központ (MGSHK), mint európai uniós referencialabor, az ICP-MS-vizsgálattal részt vett 2010-ben a Joint Research Centre Institute for Reference Materials and Measurements (JRC IRMM) által szervezett International Measurement Evaluation Programme IMEP-107-es körvizsgálatában, amelyben az összes ar-

zénkoncentráció meghatározása mellett már külön szerepelt a szerves arzén tartalom is. A fenti módszert alkalmazva, az összes arzénkoncentrációból levonva a mért szerves arzénkomponensek összegét, adtuk meg az eredményt ( $0,138 \pm 0,044$  mg/kg; Z-érték=2,00<sup>2</sup>). A résztvevő laboratóriumok eredményeit a **4. ábra** mutatja be, az MGSHK ICP-MS-vizsgálat eredménye 24-es kódszámmal van jelölve [9].



4. ábra: Az IMEP-107 szerves arzén körvizsgálat eredménye (MGSHK kódszám: 24) [9]

Figure 4: Results of proficiency testing program IMEP-107 on the determination of inorganic arsenic (MGSHK code number: 24) [9]

## Ivóvíz – Arzénspeciáció közkutakból helyszíni ioncserés elválasztással

Napjainkban Magyarországon az ivóvíz minőségére nézve a legnagyobb problémát a vízáadó rétegekből az ivóvízbe oldódó arzén mennyisége jelenti.

Az Alföldi ivóvizek arzén-speciáció feltérképezése céljából Bács-Kiskun, Békés és Csongrád megye, illetve a Budapest vonzáskörzetébe tartozó üdülőövezet közútjából huszonhárom vízmintát gyűjtöttünk a bennük lévő As(III) és As(V) speciók arányának felderítésére. A speciók egymásba való átalakulását úgy akadályoztuk meg, hogy a helyszíni mintavétel során a vízmintákat szilárd fázisú anioncserélő gyantával töltött patronokon engedjük át (**5. ábra**). Ezt követően az ezzel az eljárással kezelt mintákat hűtve szállítottuk a laboratóriumba, ahol nagy felbon-

tású induktív csatolású plazma tömegspektrométerrel (HR-ICP-MS) elemeztük meg. A mintákban meghatározott teljes arzénkoncentráció huszonkét esetben nagyobb volt, mint az Európai Unió ivóvízre jelenleg érvényben lévő egészségügyi határértéke (10 µg/l). A minták teljes arzénkoncentráció-tartománya 7,2 és 210,3 µg/l között változott. Az ioncserélő töltetek sósavas kondicionálása nagy felbontás alkalmazását tette szükségessé a kromatográfiai frakciók vizsgálatánál, de az As(V)-öt tartalmazó frakciót már közepes felbontásban is mérni lehetett. A speciációs vizsgálatok eredményei szerint a minták kétharmadában az As(V) több mint 60%-ban volt jelen. Az As(V)/As(III)-arány meghatározásán túlmenően, a minták geokémiai környezetére is kaptunk információt az oxoanion-képző elemek (Mo, Se, U, V és W) egyidejű HR-ICP-MS-technikával történő meghatározásával.

<sup>2</sup> A Z-érték (Z-score) azt mutatja meg, hogy adott vizsgálati eredmény mennyire tér el a referenciaértéktől (ld. JRC IRMM IMEP 107 hivatkozásban)

The present results are consistent with test results for total As content of foods analyzed by the MGSZHK between 2003 and 2008 (3207 analyses, of which 773 288 were milk and egg samples, respectively). Accordingly, the As content limit value set by EüM decree 17/1999 (VI. 16.) was not exceeded for any of the foods analyzed [12].

It was proven by the experiments of Túri et al. (2009) that high As concentrations cannot be expected for milk and dairy products, even in the case of high As intakes [13].

*Figure 9: Arsenic content of water samples analyzed in the present study ( $\mu\text{g/L}$ )*

*Figure 10: Arsenic content of food samples using drinking water from food manufacturing plants ( $\mu\text{g/kg}$ )*

As summarized in **Table 3**, two, characteristically Hungarian menus were put together from the foods sampled during the authority inspection, differing mainly in terms of fat content. The energy content of both menus (based on a body weight of 70 kg) is ca. 2000 kcal per day, corresponding to the daily energy need of a person of average gender, age, body weight and physical activity [16]. The nutrient composition (carbohydrate, fat and protein) of each item originates from the same table of nutrients [14]. Arsenic intake was calculated similarly to nutritional value calculations.

*Table 3: Examples for the estimation of daily arsenic intake with foods ( $\sim 0.4 \mu\text{g/kg}$  of body weight per day for a person with a body weight of 70 kg)*

Analysis of the menus that can be considered general in Hungary shows that daily As intake of people can be estimated between 20 and 30  $\mu\text{g}$ , irrespective of the fat content of the two menus. Although the fat content of the food does not affect the arsenic content, it may influence As absorption from the stomach. Adding to this estimate the consumption of 2.5 L of drinking water of average As content as determined in this study (17.4  $\mu\text{g/L}$ ), the total As intake of a person comes to 70 to 80  $\mu\text{g/day}$  (1 to 1.14  $\mu\text{g/kg}$  of body weight per day).

Results show that the estimated average daily dietary As intake in Hungary, calculated with 2 L of drinking water with an arsenic concentration of 10  $\mu\text{g/L}$ , is only 40% of the amount recommended by the WHO. In five settlements, As intake exceeded the  $\text{BMDL}_{0.5}$  value of 3  $\mu\text{g/kg}$  of body weight per day. Three of these are situated in Csongrád county, within 55 km of each other. Maximum As intake was 3.8  $\mu\text{g/kg}$  of body weight per day.

Even if the As load of a person consuming water that contains 50  $\mu\text{g/L}$  of As, in accordance with the former regulation, is calculated with a daily water consumption of 2 L and a diet of typical domestic habits, the value comes to 60 to 70% of the recommended  $\text{BMDL}_{0.5}$  level, which can still be considered safe.

If soups, beer or soft drinks are made by households or SMEs from tap water contaminated with As then, naturally, the As concentration of these food items will be proportional to that of the water used. It is important to note this because these foods contribute significantly to the daily diet in Hungary. Therefore, activities of SMEs should be inspected regularly, with special emphasis on local food operators and restaurants [15].

Taking into consideration the analytical results and the resolution issued by the WHO, the average As load of the population is less than the  $\text{BMDL}_{0.5}$  level. However, based on the location and individual eating habits, either positive or negative differences from this may occur.

It is important to note that European health statistics show that, unfortunately, Hungary is at the top of the list for most diseases, such as lung cancer (**Figure 11**) or cardiovascular diseases. This fact is indeed a cause for

concern but it is explained more by an unhealthy diet, the consumption of too much carbohydrates and fat, smoking and drinking habits and a sedentary lifestyle.

*Figure 11: Lung cancer incidence rates per 100,000 people in the EU-27 (2008) [17]*

According to statistical data, 31% of the Hungarian female population and 41% of the male population aged 20-64 smoke regularly [18]. Tobacco smoke also contains arsenic and it is a well-known fact that smoking is a major contributor to lung cancer. Unfortunately, Hungary had also the highest obesity rates in 2012: 30.4% of Hungarian women and 26.3% of men were overweight. It is well-known that obesity is responsible for the development of certain diseases such as cardiovascular diseases or diabetes [19].

In light of these medical data, we consider it is very important to monitor the arsenic load of the population. In addition to the removal of arsenic from drinking water, food items should be properly chosen as a healthy lifestyle should be led as well. It should be emphasized that it is most likely that an unhealthy diet contributes more to the medical problems of the population and the development of diseases than As ingested with foods and drinking water, whose possible effects will be masked by those of the former.

## Conclusions

**Speciation.** Organic and inorganic As species in foods can be analyzed relatively easily and reliably by HPLC-ICP-MS hyphenation. Therefore, this technique is thought to be suitable for routine analysis in the future, although it is still quite pricey, and more time-consuming than atomic spectrometric methods.

**Drinking water.** „*In-situ*” separation of As(V) and As(III) can be achieved relatively easily and gives reliable results. In the samples analyzed, the predominant form of As is As(V) which poses a smaller risk than As(III). On-site ion exchange resin column separation and analysis of the accompanying oxyanion-forming elements contributes significantly to the interpretation of the results.

**Food.** There is a strong correlation between the As concentration of foods and that of the water used for food processing. Arsenic concentration of high water content foods is proportional to the As concentration of the water used. Since the foods analyzed form a major part of the daily diet in Hungary, activities of the SMEs should be monitored regularly, with special attention to local food operators and restaurants.

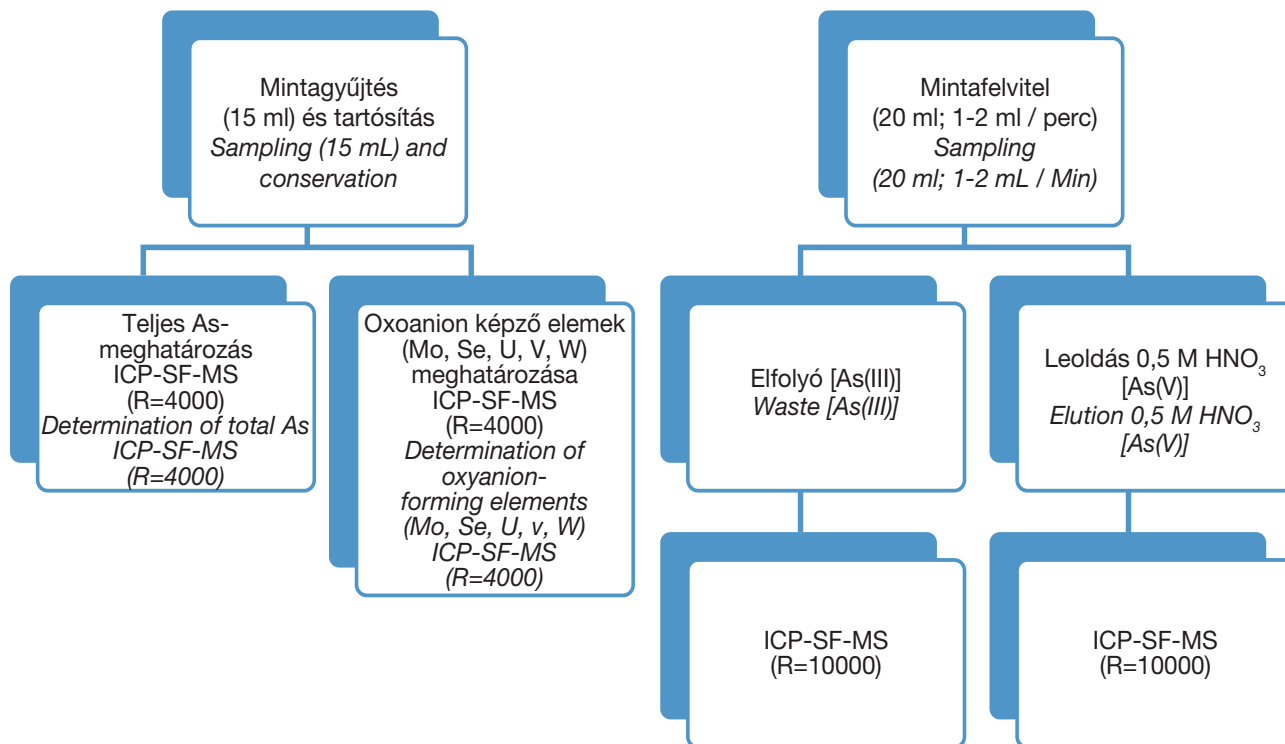
However, taking into account dietary habits in Hungary and calculating with a daily drinking water consumption of 2 L, Hungarian As intake is less than the  $\text{BMDL}_{0.5}$  level determined by the WHO even in areas where As concentration of drinking water exceeds the European Union health limit value of 10  $\mu\text{g/L}$ . Fish consumption is relatively low in Hungary, especially that of marine fish. According to the literature, inorganic As compounds are formed during heat treatment of organic As compounds enriched in marine fish as well, depending on the temperature and the duration of the treatment. We consider it an important task for the future to analyze As species in this way in samples where total As concentration would exceed worst case scenario levels.

## Acknowledgements

We would like to thank András Bartha and Éva Bertalan for their advice on the on-site ion exchange separation, employees of MGSZHK involved in the inspection and analytical work performed in 2010, and Krisztina Bárdosiné Horányi for proofreading the manuscript.

<sup>3</sup> EüM decree 17/1999. (VI. 16.) about the allowable chemical contamination of foods





5. ábra: Az elválasztás folyamata ivóvizek arzénspeciációjára

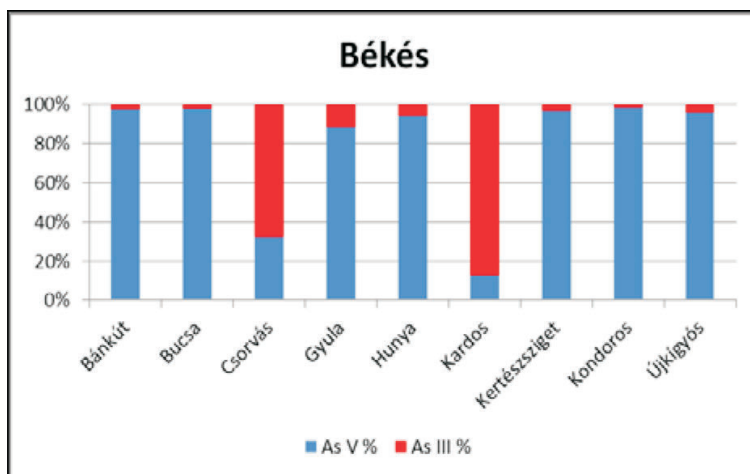
Figure 5: Separation scheme for As speciation of drinking waters

A vizsgált mintákban szerves As-vegyületek nem voltak kimutathatók. A minták kétharmadában az As(V)/As(III)-koncentráció aránya meghaladta a 60%-ot. Békés megyében As(V), míg Csongrád megyében a vizsgált minták közel felében az As(III) volt az uralkodó speciesz. Az egyes megyék területén vizsgált, két arzénszpeciesz egymáshoz viszonyított arányát a **6., 7. és 8. ábrán** mutatjuk be.

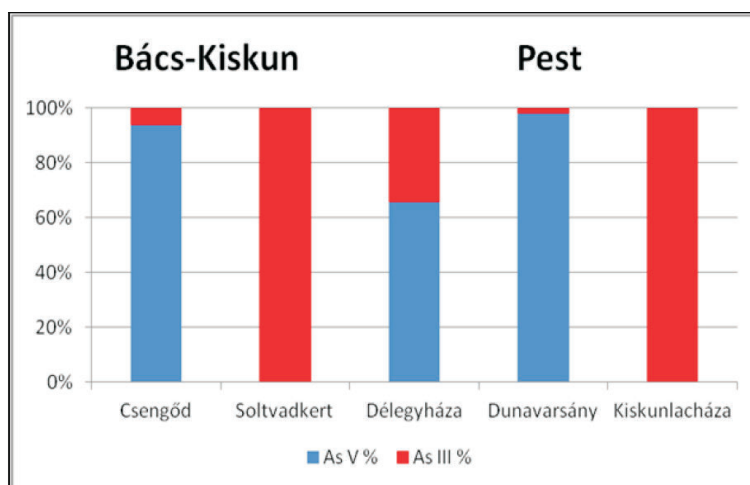
Az „*in-situ*” As(V)/As(III) szétválasztás viszonylag egyszerűen megoldható, és megbízható eredményt ad. Egyelőre nem áll rendelkezésre olyan megoldás, amely minden tekintetben kielégítő lenne a nagy te-

rületeket érintő természetes eredetű, de határértéket meghaladó arzéntartalmú ivóvizek arzénmentesítésére, ezért fontos megbecsülni azt, hogy a lakosság mekkora kockázatnak van kitéve az ilyen ivóvizek fogyasztásának következtében. Első megközelítésben a napi használatban levő kutak vizsgálatával az összes arzéntartalomról kaptunk képet, majd az arzénvegyületek megbízható elválasztását kellett elvégezni a helyszínen. A nyers vízminta megbízható helyszíni elválasztását anioncserélő gyantával töltött oszlopon végeztük.

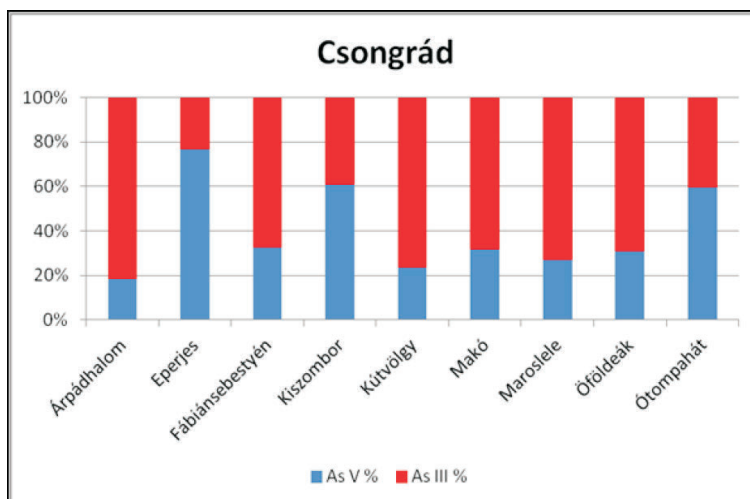




6. ábra / Figure 6



7. ábra / Figure 7



8. ábra / Figure 8

6-8. ábra: A vizsgált ivóvízminták As(V)/As(III)-megoszlása Békés, Bács-Kiskun, Pest és Csongrád megyékben (2012)

Figures 6-8: As(V)/As(III) distribution of drinking water samples from Békés, Bács-Kiskun, Pest and Csongrád counties (2012)

Eredményeink szerint a vizsgált mintákban az As(V) az uralkodó forma, amely kisebb kockázatot jelent, mint az As(III) (6-8. ábra).

A fentiekén túlmenően a közutakból származó vizsgált minták többségében, a jelentősebb oxoanion-képző elemek jelenléte igazolta a számított nagy As(V)/As(III)-arányt. Így az oxoanion-képző elemek kiegészítő vizsgálata megbízhatóbb eredményt ad, mint más, a helyszínen mért paraméter (pl. redox-potenciál, pH) [10].

### Élelmiszerek és a feldolgozásukhoz használt víz arzéntartalmának vizsgálata

Az emberi szervezetbe bejutó arzén közel 90%-át az

élelmiszer és az ivóvíz teszi ki. A Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal jogelődje, az MGSZHK 2010 februárjában és márciusában hatósági vizsgálat keretében élelmiszer- és a feldolgozásukhoz használt vízmintákat gyűjtött a nagy arzénkoncentráció által sújtott területeken működő élelmiszer- és vendéglátóipari kis- és közepes vállalatoktól (KKV), illetve nagyvállalatoktól. A vizsgálatba bevont 57 cég 75%-a KKV volt. A mintavétel kiterjedt készételekre, feldolgozott élelmiszerekre (pékáru, felvágott, sajt stb.), néhány nyers élelmiszere (tej, tojás, hús) és az állattartáshoz felhasznált itatóvízre is. Tizenkét megyéből összesen 67 élelmiszermintát vizsgáltunk (2. táblázat).

2. táblázat: A 2010. évi felmérés során vizsgált élelmiszerek osztályozása a mintavételi helyek szerint

Table 2: Classification of the foods analyzed during the 2010 inspection according to sampling location

Minta Sample	Megye County	Baranya	Bács-Kiskun	Békés	Borsod-Abaúj Zemplén	Csongrád	Fejér	Főváros és Pest	Hajdú-Bihar	Heves	Jász-Nagykun- Szolnok	Szabolcs-Szatmár- Bereg	Vas	Összesen
Húskészítmény Meat products				1	1	1					1		1	5
Sör / Beer			1	1							1			3
Szikkvíz / Soda water			1	1	1	1						1		5
Üdítőital / Soft drinks			1						1			1		3
Sütőipari termék Baked goods			1	1	1	1		4	1	1	1	1		12
Tej/tejtermék Milk/dairy products			1	1		2		2	2	1	1	2	1	13
Tojás / Eggs			1			1			1		1	1		5
Készétel / Prepared meals		1	1	1	1	1	1	2	1			1	1	11
Tartósítóiipari termék Preserved foods			1	1		1			1	1	1	2		8
Bébiétel / Baby food			2											2
Összesen / Total:		1	10	7	4	8	1	8	7	3	6	9	3	67

A folyadékokat mikrohullámmal elősegített salétromsavas feltárással, a szilárd mintákat szárazhamvasztással dolgoztuk fel. A víz- és vizes alapú mintákat ICP-MS, míg a hamvasztással feldolgozott mintákat hidridfejlesztés atomabszorpciós technikával vizsgáltuk. A 61 vízminta közel 75%-ában az arzénkon-

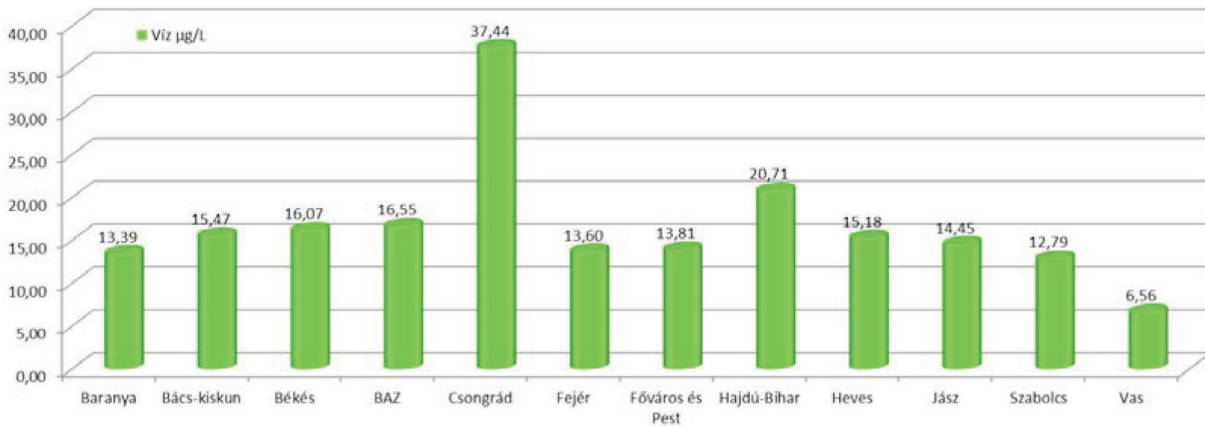
centráció meghaladta a 10 µg/literes határértékét (9. ábra). A vizes alapú minták (levesek, kompótok, savanyúság, üdítő- és alkoholos italok) arzénkoncentrációja arányos az elkészítéséhez felhasznált víz arzénkoncentrációjával (10. ábra).



A többi élelmiszer eredményeinek értelmezéséhez uniós jogharmonizáció hiányában csak a hazai 17/1999. EüM rendelet<sup>3</sup> [11] tudjuk figyelembe venni. Ennek értelmében egyetlen vizsgált élelmiszer minta arzénkoncentrációja sem haladta meg az egészségügyi határértéket, még akkor sem, ha az elkészítéséhez használt víz arzénkoncentrációja nagyobb volt a hatóságilag megengedett értéknél. Eredményeink segítséget nyújthatnak az étrend összeállításánál – a kalóriaszámoláshoz hasonló módon – a tápanyag-, illetve az arzénbevitel kontrollálására is.

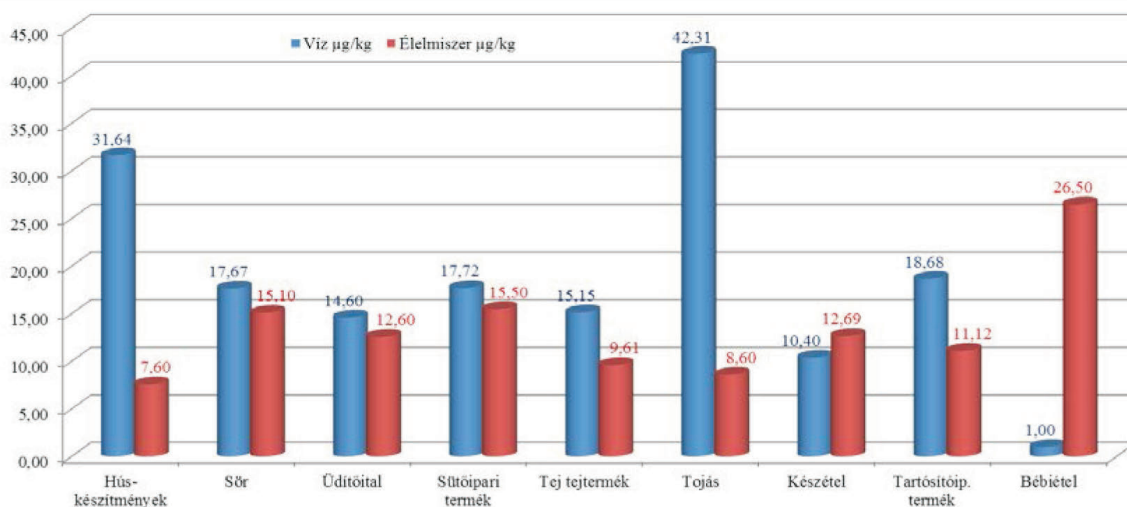
Jelen eredmények összhangban vannak az MGSZHK által 2003 és 2008 között vizsgált élelmiszerek összes arzéntartalmára vonatkozó arzénvizsgálati eredményekkel (3207 vizsgálat, ebből 773 tej- és 288 tojásminta). Eszerint a vizsgált élelmiszerek arzéntartalma egy esetben sem haladta meg a 17/1999. (VI.16.) EüM rendeletben előírt határértéket [12].

(Túri és mtsai., 2009). Kísérlettel bizonyították, hogy tej és tejtermékek esetében nem várható nagy arzénkoncentráció még extrém nagy arzénbevitel esetén sem [13].



9. ábra: A jelen tanulmány keretében vizsgált vízminták arzéntartalma (µg/L)

Figure 9: Arsenic content of water samples analyzed in the present study (µg/L)



10. ábra: Az élelmiszert előállító üzemekből származó ivóvízhez tartozó élelmiszerminták arzéntartalma (µg/kg)

Figure 10: Arsenic content of food samples using drinking water from food manufacturing plants (µg/kg)

A **3. táblázatban** összefoglaltak szerint két, jellemzően magyar menüt állítottunk össze a hatósági vizsgálatban szereplő élelmiszerekből. A két menü főleg a zsírtartalomban tért el egymástól. Így mindkét menü energiatartalma (70 kg testsúlyú személyt alapul véve) körülbelül napi 2000 kcal érték, amely megfelel az átlaglakosság sajátos nemi, életkori, át-

lagos testsúly szerinti és átlagos fizikai aktivitást végző tagjainak napi energiaigényével [16]. Minden tétel tápanyag-összetételének értéke (szénhidrát, zsír és fehérje) ugyanabból a tápanyagtáblázatból származik [14]. A tápérték számításához hasonló módon az arzénbevitelt is ki lehetett számítani.

<sup>3</sup> 17/1999. (VI. 16.) EüM rendelet az élelmiszerek vegyi szennyezettségének megengedhető mértékéről

3. táblázat: Példa a napi étrend által bevitt arzén becslésére (70 kg-os személyre ~0,4 µg/testtömeg kg/nap)

Table 3: Examples for the estimation of daily arsenic intake with foods (~0.4 µg/kg of body weight per day for a person with a body weight of 70 kg)

	Élelmiszer	(g)	(kcal)	As (µg)
Reggeli Breakfast	Túró Cottage cheese	50	40	1,3
	Kenyér / Bread	140	378	2,1
	Üdítő / Soft drink	300	35	4,0
	Kompót Compote	200	180	1,9
Ebéd Lunch	Húsleves / Broth	250	190	3,0
	Paradicsomos káposzta Tomato cabbage	250	140	5,0
	Karaj / Pork chop	250	235	0,8
Vacsora Dinner	Virslí (1 pár) Frankfurter (1 pair)	100	200	1,1
	Kenyér / Bread	140	378	2,1
	Sör / Beer	500	220	7,5
Összesen / Total:		1996	28,8	

	Élelmiszer	(g)	(kcal)	As (µg)
Reggeli Breakfast	Tej / Milk	300	186	2,6
	Kifli (2db) Crescent roll (2 pcs)	140	270	2,5
	Párizsi / Baloney	50	130	0,5
	Sajt / Cheese	50	150	0,5
Ebéd Lunch	Zöldségleves Vegetable soup	250	120	4,5
	Pörkölt / Stew	150	200	3,3
	Savanyúság Pickles	100	35	0,9
Vacsora Dinner	Tojás (3db) Egg (3 pcs)	150	265	1,3
	Kenyér / Bread	140	378	2,1
	üdítő / Soft drink	300	126	4,0
Összesen / Total:		1996	28,8	

A Magyarországon általánosnak tekinthető menü vizsgálata szerint az emberek napi arzénbevétele körülbelül 20 és 30 µg között van, ami független a két menü zsírtartalmától. Habár az élelmiszer zsírtartalma nem befolyásolja az étel arzéntartalmát, ezért hatással lehet annak a gyomorból való felszívódására. Ehhez a becsléshez hozzászámítva azt, hogy napi 2,5 liter, ebben a tanulmányban meghatározott, átlagos arzéntartalmú (17,4 µg/l) ivóvíz fogyasztásával egy személy arzénbevétele 70 - 80 µg/ nap között van (1-1,14 µg/ testtömeg kg/nap).

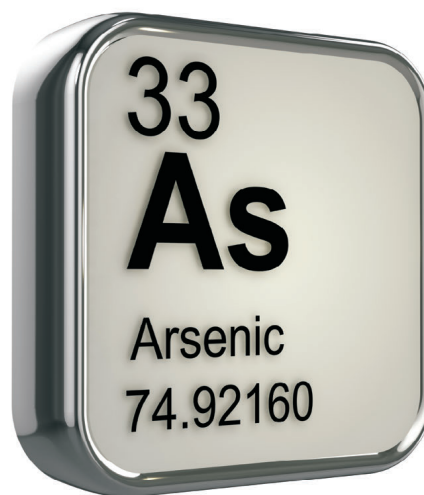
Az eredmények azt mutatják, hogy Magyarországon átlagos étkezéssel a becsült napi arzénbevitel, 2 liter 10 µg/l arzénkoncentrációjú ivóvízzel együtt, a WHO által ajánlott szint kb. 40%-át éri el. Öt településen az arzénbevitel meghaladta a 3 µg/testtömeg kg/nap BMDL<sub>0,5</sub> értéket. Ezek közül három Csongrád megyében található 55 km-es távolságon belül. A maximális arzénbevitel 3,8 µg/testtömeg kg volt.

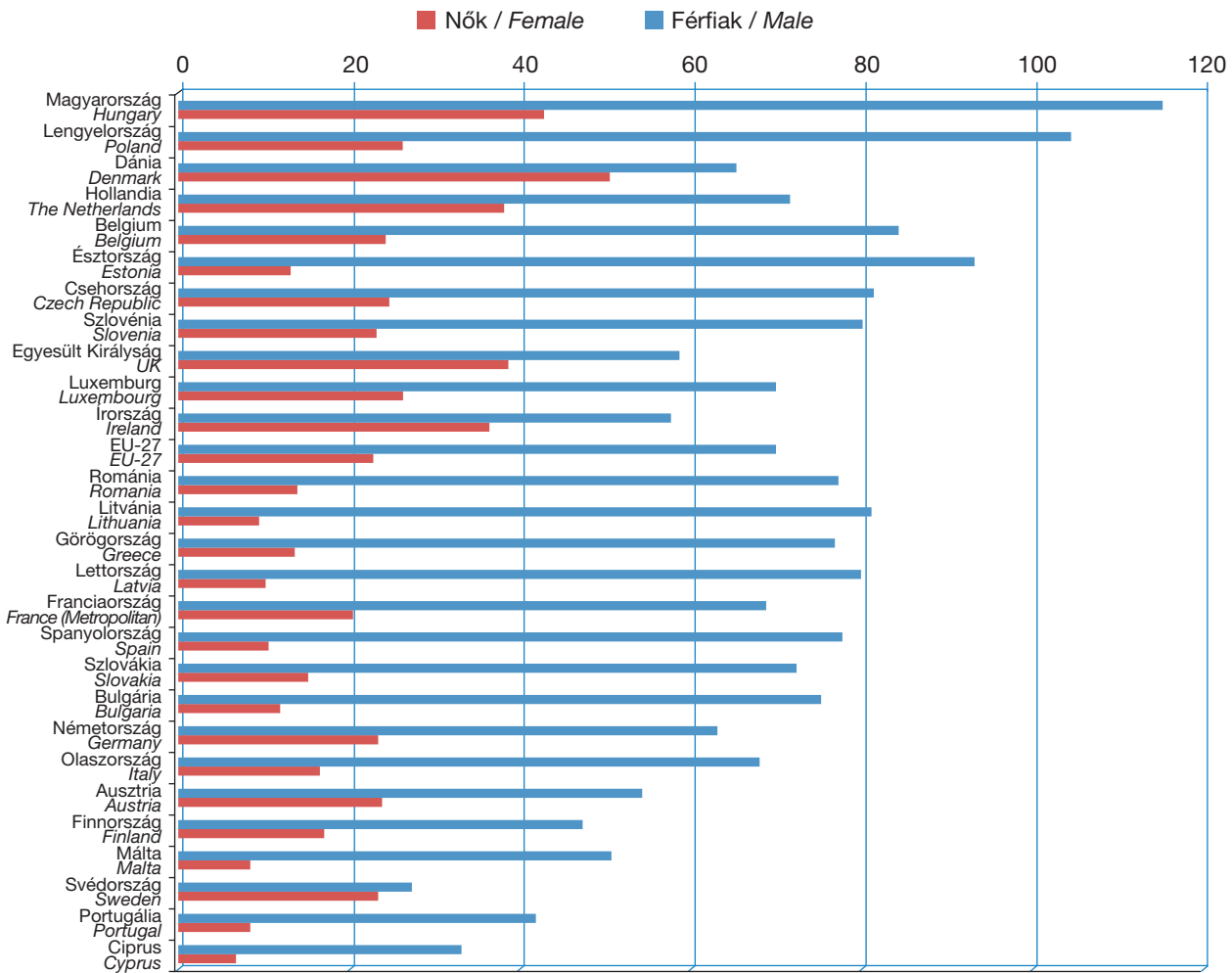
Amennyiben olyan területen élő személy arzénterhelését figyeljük meg, aki nem az új, hanem a régi 50 µg/l arzénkoncentrációjú vizet fogyasztja, a napi 2 l vízfogyasztás és a hazai szokásoknak megfelelő táplálkozást figyelembe véve, ez az érték az ajánlott BMDL<sub>0,5</sub> szint 60-70 %-a, amely még mindig biztonságosnak tekinthető.

Ha a háztartások vagy a regionális KKV-k arzénal szennyezett csapvízből készítenek leveseket, sört, és üdítőitalokat, akkor természetesen ezeknek az élelmiszereknek az arzénkoncentrációja egyenesen arányos lesz a felhasznált víz arzénkoncentrációjával. Ezt a körülményt azért fontos ismerni, mert ezek az élelmiszerek jelentős mértékben hozzájárulnak Magyarországon a napi étrendhez. Ezért a KKV-k tevékenységét különös tekintettel a helyi élelmiszeripari vállalkozásokra és vendéglátóhelyekre, rendszeresen ellenőrizni kell [15].

A vizsgálati eredményeket és a WHO által kiadott állásfoglalást tekintve a lakossági arzénterhelés átlagosan nem éri el a BMDL<sub>0,5</sub> szintet, azonban ettől az átlagos szinttől helyenként és egyéni étkezési szokásoktól függően eltérve akár pozitív, akár negatív különbségek is adódhatnak.

Fontosnak tartjuk megjegyezni, hogy a jól ismert európai egészségügyi statisztikák sajnálatos módon azt mutatják, hogy Magyarország a legtöbb betegségben élén jár, úgymint tüdőrák (**11. ábra**), szív- és érrendszeri megbetegedések. Ezt az aggodalomra okot adó képet sokkal inkább az egészségtelen táplálkozás, a túl sok szénhidrát és zsír fogyasztása, valamint a dohányzási, alkoholfogyasztási szokások és a mozgásszegény életmód magyarázza.





11. ábra: A tüdőrák előfordulása az EU 27 tagállamában (2008), 100.000 főre vonatkoztatva [17]

Figure 11: Lung cancer incidence rates per 100,000 people in the EU-27 (2008) [17]

Statisztikai adatok szerint a 20–64 év közötti magyar női lakosság 31%-a, a férfiak 41%-a rendszeresen dohányzik [18]. A dohányfüst szintén tartalmaz arzént és köztudott, hogy a dohányzás nagymértékben hozzájárul a tüdőrák kialakulásához. Sajnos Magyarország az elhízás gyakoriságában is vezetett 2012-ben: a magyar nők 30,4 %-a, a férfiak 26,3 % volt túlsúlyos. Az elhízás pedig olyan betegségek kialakulásáért felelős, mint a szív- és érrendszeri megbetegedések vagy a cukorbetegség [19].

Ezen egészségügyi adatok ismeretében nagyon fontosnak tartjuk, hogy a lakosság arzénterhelése ellenőrzött legyen. Az ivóvizek arzénmentesítése mellett ügyelni kell az élelmiszerek helyes megválasztására, az egészséges életmódra is. Hangsúlyozzuk azonban, hogy a lakosságot érintő egészségügyi problémák és a betegségek kialakulásához az egészségtelen táplálkozás valószínűleg sokkal inkább hozzájárul, mint az élelmiszerekkel és az ivóvízzel elfogyasztott arzén, amelynek esetleges hatását az előbbi következményei elfedik.

### Következtetések

**Speciáció.** A HPLC-ICP-MS-csatolással viszonylag egyszerűen és megbízhatóan végezhető az élelmiszerek arzéntartalma szerves és szervetlen módosu-

latainak vizsgálata, ezért a jövőben alkalmasnak találjuk rutinvizsgálatok végzésére is, habár még mindig költséges vizsgálatnak számít, és az atomspektrometriai módszerekhez képest jóval időigényesebb.

**Ivóvíz.** Az „*in-situ*” As(V)/As(III) szétválasztás viszonylag egyszerűen megoldható és megbízható eredményt ad. A vizsgált mintákban az As(V) az uralkodó forma, amely kisebb kockázatot jelent, mint az As(III). A terepi töltött oszlopos szétválasztás és a kísérő oxoanion-képző elemek vizsgálata nagymértékben hozzájárul az eredmények értelmezéséhez.

**Élelmiszer.** Az élelmiszerek arzénkoncentrációja szoros összefüggésben van a feldolgozásukhoz használt víz arzénkoncentrációjával. A nagy víztartalmú élelmiszerek arzénkoncentrációja arányos a felhasznált víz arzéntartalmával. Mivel a vizsgált élelmiszerek jelentős mértékben hozzájárulnak Magyarországon a napi étrendhez, rendszeresen ellenőrizni kell a KKV-k tevékenységét, különös tekintettel a helyi élelmiszeripari vállalkozásokra és a vendéglátóhelyekre.

Mindazonáltal a magyarországi táplálkozási szokásokat figyelembe véve és napi 2 liter ivóvíz elfogyasztásával számolva a magyarországi arzénterhelés nem éri el a WHO által meghatározott  $BMDL_{0,5}$  szintet azokon a területeken sem, ahol az ivóvíz arzénkon-



centrációja meghaladta a 10 µg/literes európai uniós határértéket. Magyarországon viszonylag alacsony a halfogyasztás, különösen a tengeri halaké. Irodalmi források szerint a tengeri halakban feldúsuló szerves arzénvegyületek hőkezelése során is keletkeznek szervesetlen komponensek, a hőmérséklet és az időtartam függvényében. A jövőre nézve fontos feladatnak tartjuk az arzénmódosulatok ilyen irányú vizsgálatát azokban a mintákban, amelyekben az összes arzénkoncentráció meghaladja a legrosszabb esetre célszerűen megállapított szintet.

### Köszönetnyilvánítás

Köszönetet mondunk Bartha Andrásnak és Bertalan Évának a helyszíni ioncserés elválasztás módszerében nyújtott tanácsokért, és az MGSZHK érintett munkatársainak a 2010-ben végzett munkájukért, valamint Bárdosiné Horányi Krisztinának a lektorálásért.

### Irodalom / References

- [1] Leermakers, M., Baeyens, W., Gieter, M., Smedts, B., Meert, C., Bisschop, H. és mtsai. (2006): Toxic arsenic compounds in environmental samples: speciation and validation. *Trends Analytical Chemistry*, 25.
- [2] Macy, J., Santini, J., Pauling, B., O'Neill, A., & Sly, L. (2000): Two new arsenate/sulfate-reducing bacteria. *Arch Microbiol*, 173, 49-57.
- [3] Európai Unió Tanácsa (1998. 11. 3.): 98/83/EK irányelv az emberi fogyasztásra szánt víz minőségéről. *AZ Európai Közösségek Hivatalos Lapja*.
- [4] Kaise T., Fukui S. (1992): The chemical form and acute toxicity of arsenic compounds in marine organisms. *Appl. Organomet. Chem.*, 6, 155-160.
- [5] Shiomi, K. (1994): In J. Nriagi, *Arsenic in the environment Part II: Humane Health and ecosystem Effects* (27. kötet, old.: 261-293). New York, USA.
- [6] Donohue, J., Abernathy, C. (1999): Exposure to inorganic arsenic from fish and shellfish. 89-98. *Arsenic exposure and Health Effects*, Chappell W.R. Abernathy C. O., Calderon R. L. (Szerk.), Oxford, UK, Elsevier Science Ltd.
- [7] WHO (2010): Preventing Disease Through Healthy Environments. Exposure To Arsenic: A Major Public Health Concern. <http://www.who.int/ipcs/features/arsenic.pdf> (Hozzáférés: 2014.05.10)
- [8] Devesa, V., Vélez, D., & Montoro, R. (2008): Effect of thermal treatments on arsenic species contents in food. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 1-8.
- [9] JRC IRMM. (2010): Forrás: <http://irmm.jrc.ec.europa.eu> (Hozzáférés: 2014.03.01)
- [10] Sugár, É., Tatár, E., Záray, G., & Mihucz, V.G. (2013): Field separation-based speciation analysis of inorganic arsenic in public well water in Hungary. *Microchemical Journal*, 107, 131-135.
- [11] 17/1999. (VI. 16.) EüM rendelet az élelmiszerek vegyi szennyezettségének megengedhető mértékéről. (1999. június 16).
- [12] Túri, M., Ácsné Kovacsics, L., Szeitzné Szabó, M., & Búza, L. (2009): Arzén élelmiszerekben. *Élelmiszervizsgálati közlemények*, LV., 170-180.
- [13] EFSA (2005): Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to arsenic as undesirable substance in animal feed. *The EFSA Journal*, 180, 1-35.
- [14] Bíró, G., & Lindner, K. (2003): Tápanyagtáblázat Táplálkozásban és tápanyag-összetétel. *Medicina Könyvkiadó Zrt.*
- [15] Sugár, É., Tatár, E., Záray, G., & Mihucz, V.G. (2013): Relationship between arsenic content of food and water applied. *Food and Chemical Toxicology*, 62, 601-608.
- [16] FAO/WHO Human energy requirements Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation. United Nations University, World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome: FAO.
- [17] Cancer Research, UK. (2009): Forrás: <http://info.cancerresearchuk.org/cancerstats/faqs/#How>
- [18] Zatonski, W., Przewoźniak, K., Sulkowska, U., West, R., & Wojtyła, A. (2012): Tobacco smoking in countries of the European Union. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 19, 181-192.
- [19] OECD (2012): Health at a Glance: Europe 2012. Forrás: [http://ec.europa.eu/health/reports/docs/health\\_glance\\_2012\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/health/reports/docs/health_glance_2012_en.pdf). water applied. *Food and Chemical Toxicology*, 62, 601-608.



## Mikotoxin tesztek, gyors módszerek, tanácsadás





TUDOMÁNY

FOLYÉKONY ÉLELMISZEREK  
A TÖMEGSPEKTROMÉTERBEN





# Folyékony élelmiszerminták destruktív minta-előkészítést nem igénylő nyomelemtartalom-meghatározási lehetőségei induktív csatolású plazma tömegspektrométerrel

## Összefoglalás

Írásunkban összefoglaltuk a folyékony élelmiszerek hagyományosnak mondható hamvasztásának, nedves roncsolásának alternatívájaként használható nem destruktív minta-előkészítési módszereket, ICP-MS meghatározáshoz. A roncsolás legfőbb hátrányaként azt lehet említeni, hogy nagymértékben hígul a minta, nagy a keresztzennyeződés esélye, valamint időigényes. A roncsolás elmaradása esetén ugyanakkor számolni kell a visszamaradó szerves anyagok hatásával, melyek spektrális, de legfőképpen nem spektrális/mátrixhatást fejtenek ki.

Részletesen tárgyaltuk a sztenderd addíciót, a bepárlást, az oxigén-bevezetést, a mikrokoncentrikus porlasztó alkalmazását, valamint a különleges mintabeviteli rendszereket is, de a leggyakrabban használt technikának mégis a mátrixillesztés, a minta hígítása és belső sztenderdek alkalmazása minősül. Legfőképpen az utóbbi három módszerrel, ill. ezek kombinált használatával lehetőség nyílik folyékony, porlasztható és könnyen homogenizálható élelmiszerek gyorsabb, egyszerűbb és olcsóbb ICP-MS vizsgálatára. Leggyakrabban vizsgált folyékony élelmiszerek a borok tekinthetők, ennek ellenére találkozhatunk sörök, gyümölcslevek, ill. tejek ICP-MS mérésével is.

## 1. Bevezetés

Az induktív csatolású plazma tömegspektrometria (ICP-MS) az elemtartalmi vizsgálati lehetőségek közül az egyik leggyorsabb és legérzékenyebb multielemes elemtartalom-meghatározási technika, amely alacsony kimutatási határral rendelkezik [ppt ( $\text{ng L}^{-1}$ ) - ppb ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )], és emellett a vizsgálható elem izotóp összetételének meghatározására is lehetőséget nyújt. Mint minden spektroszkópiai módszernél, az ICP-MS-nél is különböző spektrális és nem spektrális (mátrix) hatások rontják az elemzés teljesítményjellemzőit (szelektivitás, pontosság, precizitás, kimutatási- és meghatározási határ).

A spektrális zavarás ICP-MS esetén izobár zavarást és kettóstöltés-képződést is jelenthet, de ezeknél

nagyobb anaitikai nehézséget okoz, ha a plazmában poliadduktumok jönnek létre [1]. May és Wiedmeyer [2] szerint a poliatomok prekursorának számos forrása lehet, pl. a minta mátrixa, a minta-előkészítésnél használt vegyszerek, a plazmagáz és a légköri gázok. A leggyakrabban előforduló prekursorok: a  $^1\text{H}$ ,  $^{12}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{N}$ ,  $^{16}\text{O}$ ,  $^{17}\text{OH}$ ,  $^{32}\text{S}$ ,  $^{35}\text{Cl}$ ,  $^{36}\text{Ar}$  és a  $^{40}\text{Ar}$ . A nem spektrális eredetű zavarások közé az összes többi, a jel nagyságot befolyásoló zavaró jelenséget sorolják. Ezeket összefoglaló néven mátrixhatásoknak nevezi a szakirodalom. A mátrix az a közeg, ami a mérendő elemet körülveszi, befolyásolja annak jel nagyságát [3]. A továbbiakban a destruktív, szerves mátrixot megszüntető, valamint ezen módszerek alternatívájaként használható minta-előkészítési módszerekről lesz szó.

## 2. Destruktív minta-előkészítés

ICP-MS mérésnél hagyományos esetben a mintát előkészítik, folyékony halmazállapotot hoznak létre, emellett megszüntetik a szerves mátrixot, ami zavarást okozna. Élelmiszereknél gyakran alkalmazott eljárás a hamvasztás, illetve nedves roncsolás, amely manapság leggyakrabban mikrohullámú roncsolást jelent [4].

A minta-előkészítés során általában hígulás lép fel az elemzésre kész mintaoldatban és az eredeti mintában lévő elem-koncentrációkat tekintve. ICP-MS esetében a hígítás többcélú. Egyrészt a roncsolás után az oldatok savtartalma jellemzően nem haladhatja meg az 5%-ot, ideális esetben maximum 2-3% lehet (máskülönben a készülék gyors ütemű korróziója lép fel), másrészt az interferenciák kialakulásának valószínűségét mérsékli [5].

A hamvasztás ugyan hatékonyan és gyorsan szünteti meg a szerves anyagokat a mintában, ugyanakkor veszteséget okozhat az illékony elemek mennyiségében (Cd, Pb, Hg, Se, Zn). Napjainkban a korszerű és

kényelmes kezelési módszert a mikrohullámú kezelés jelenti, mellyel csökkenthető a roncsolás vegyszer-szükséglete és mivel zárt rendszerről van szó, nem lép fel veszteség és egyenletes hőeloszlást kap a minta [4].

A roncsolásos minta-előkészítés folyékony minták esetében a minta halmazállapotából adódóan elhagyható lenne, az előkészítést azonban az indokolhatja, hogy a szerves anyagok sok esetben erőteljes mátrix és spektrális zavarásokat okoznak. Emiatt számos kutató alkalmazza folyékony élelmiszerek esetén is a mikrohullámú nedves roncsolást (**1. táblázat.**). Katona és munkatársai [6] borok minta-előkészítési műveleteit összehasonlító vizsgálatában a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nélküli salétromsavas, mikrohullámmal elősegített minta-előkészítést tekintették viszonyítási alpnak. A mikrohullámú roncsolás mellett használatos még a blokkroncsolóval végrehajtott nedves roncsolás is. Khan és munkatársai [7] HNO<sub>3</sub> és H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> hozzáadását követően tej és joghurt minták roncsolását végezte ezzel a technikával.

1. táblázat: Mikrohullámú nedves roncsolással előkészített élelmiszerek  
Table 1: Sample preparation of foods by microwave-assisted wet digestion

Vizsgált élelmiszer / Food type	Roncsoló közeg Digestion medium	Hivatkozás / Reference
bor, sör, teljes zsírtartalmú tej Wine, beer, whole milk	HNO <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Husáková és munkatársai [8] / Husáková et al. [8]
bor / Wine	HNO <sub>3</sub>	Geana és munkatársai [9] / Geana et al. [9]
növényi olaj / Vegetable oil	HNO <sub>3</sub>	Llorent-Martinez és munkatársai [10] Llorent-Martinez et al. [10]
narancslé / Orange juice	HNO <sub>3</sub>	Simpkins és munkatársai [11] Simpkins et al. [11]
tej / Milk	HNO <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Potorti és munkatársai [12] / Potorti et al. [12]

A mikrohullámú roncsolás számos előnye mellett hátrányokkal is rendelkezik. A fentebb említett okok miatt hígul a minta, ennek következtében egyes elemek mérendő mennyisége akár a vizsgálandó elem kimutatási határa alá is csökkenhet. A hamvasztáshoz és egyéb roncsoláshoz képest ugyan kevésbé időigényes, de még mindig körülményes módszernek tekinthető. Nagy a keresztszennyeződés esélye a roncsoló edénnyel érintkező minta, valamint a hozzáadott reagensek miatt [4]. Magas költséget jelent a nagy tisztaságú salétromsav használata, illetve szükséges lehet savdesztilláló készülék beszerzése. A vegyszerfelhasználás emellett környezetvédelmi szempontokat is érint.

## 3. Roncsolás nélküli, egyéb használható technikák

Lehetőség van a roncsolás elhagyására és a minta roncsolás nélküli közvetlen bevitelére folyadékot esetében, különböző technikákat alkalmazva, pl. hidrid-generálásos (HG) atomfluoreszcens (HG-AFS) és atomabszorpció (HG-AAS), valamint elektrotermikus atomabszorpció (HG-ET-AAS), illetve induktív

csatolású plazma optikai emissziós spektrométerrel (ICP-OES) [13], de ICP-MS esetében is használható ez a mérési módszer. Ezáltal egyszerűsödik a minta-előkészítés, csökkenthető a minták keresztszennyeződésének a kockázata, minimalizálható az analízis vesztesége, valamint nem szükséges veszélyes vagy korrozív vegyszerek használata.

A visszamaradó szerves mátrix ugyanakkor befolyásolhatja:

- a minta porlasztási határfokát,
- a minta transzportját a plazmába [14], [15],
- a lerakódás-képződést a plazmaégőben és az ionoptikában [15],
- a mintázó kónusz nyílásának átmérőjét, így csökkenti a tömeganalizátorba jutó ionok mennyiségét [16],
- az egyes magas ionizációs energiájú elemek (pl. As, Se) ionizációjának mértékét [14].

# Possibilities of trace element content determination in liquid foods without destructive sample preparation using inductively coupled plasma mass spectrometry

Áron Soós – Dávid András – Béla Kovács

## Summary

In this review, non-destructive sample preparation techniques were summarized as possible alternatives to the traditional dry ashing and wet digestion for liquid food samples in ICP-MS measurements. The most important disadvantages of destructive techniques are the high dilution factor, the high risk of cross-contamination, and being considerably time-consuming. The lack of destruction causes organic components to remain behind, resulting in the emergence of spectral and, more often, non-spectral/matrix effects.

These effects can be eliminated or corrected by standard addition, evaporation, addition of oxygen, using a micro-concentric nebulizer, and also by the application of special sample introduction systems, however, the most important techniques are the application of sample dilution, matrix-matched calibration and internal standardization. Using these three techniques, or a combination of them, makes a simple, rapid and relatively cheap sample preparation possible in homogeneous liquid food samples for ICP-MS determination. The most often measured liquid food is wine, however, analyses of beer, fruit juices and milk can also be found in scientific literature.

## 1. Introduction

Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) is one of the fastest and most sensitive methods for multielement determination of element content, having a low limit of detection [ppt (ng L<sup>-1</sup>) - ppb (µg L<sup>-1</sup>)], also making it possible to determine the isotope composition of the element measured. As is the case for all spectroscopic methods, performance characteristics of ICP-MS (selectivity, accuracy, precision, limits of detection and quantification) are diminished by different spectral and non-spectral (matrix) effects.

Spectral interference in the case of ICP-MS can mean isobaric interferences or the formation of double charged ions, but an even bigger analytical problem is if polyadducts are formed in the plasma [1]. According to May and Wiedmeyer [2], there can be several sources of precursors to polyatomic ions, e.g. the sample matrix, chemicals used for sample preparation, plasma gas or atmospheric gases. The most common precursors are <sup>1</sup>H, <sup>12</sup>C, <sup>13</sup>C, <sup>14</sup>N, <sup>16</sup>O, <sup>17</sup>OH, <sup>32</sup>S, <sup>35</sup>Cl, <sup>36</sup>Ar and <sup>40</sup>Ar. All other phenomena influencing signal intensity are considered non-spectral interferences. These are collectively referred to as matrix effects in the literature. The matrix is the medium that surrounds the element to be measured, influencing its signal intensity [3]. Henceforth, destructive sample preparation methods eliminating the organic matrix, and their alternatives are discussed.

## 2. Destructive sample preparation

Traditionally, when samples are prepared for ICP-MS measurement, a liquid state is established, eliminating the organic matrix that may cause interference. In the case of foods, commonly used methods are dry ashing and wet digestion, generally meaning microwave digestion these days [4].

During sample preparation, generally dilution occurs in terms of the concentration of the elements in the sample solution ready to be analyzed, compared to the original sample. This dilution has several purposes in the case of ICP-MS. On the one hand, acid content of the solutions after digestion typically should not exceed 5%, and should be no more than 2 to 3% ideally (otherwise rapid corrosion of the instrument will occur), and on the other hand, it reduces the probability of interferences [5].

Although dry ashing is an efficient and fast way to remove organic substances from the sample, but it also reduces the amount of volatile elements (Cd, Pb, Hg, Se, Zn) in the sample. Today, a modern and convenient treatment method is microwave digestion, reducing the demand for chemicals, and since it is a closed system, no loss occurs and the heat distribution of the sample is uniform [4].

Destructive sample preparation in the case of liquid samples could be omitted due to the physical state of the sample, but sample preparation can be justified by the fact that organic substances often result in strong matrix and spectral interferences. Therefore, microwave-assisted wet digestion is used by many researchers even in the case of liquid foods (**Table 1**). Microwave-assisted nitric acid digestion without H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was considered as the benchmark by Katona et al. [6] in their study comparing sample preparation methods of wines. In addition to microwave digestion, wet digestion performed by a block digester is also used. This technique was used by Khan et al. [7] to digest milk and yogurt samples after the addition of HNO<sub>3</sub> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Table 1: Sample preparation of foods by microwave-assisted wet digestion

Microwave digestion has not only several advantages, but some disadvantages as well. Because of the reasons mentioned above, the sample is diluted and, consequently, the amount of certain elements to be measured might fall below their limits of detection. Even though it is less time-consuming than dry ashing or other digestion techniques, but it can still be considered an elaborate method. The likelihood of cross-contamination is high because of the contact with the digestion vessel, and also because of the reagents added [4]. The use of high purity nitric acid is very costly, as can be the purchase of the necessary acid distillation apparatus. The use of chemicals has also environmental aspects.

## 3. Other, non-destructive techniques

It is possible to omit digestion and introduce liquid samples directly, without digestion, using a variety of techniques, for example hydride generation (HG) atomic fluorescent (HG-AFS) and atomic absorption (HG-AAS), as well as electrothermal atomic absorption (HG-ETAAS) and inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) [13], but this analytical method can also be used with ICP-MS. It simplifies sample preparation, reduces the risk of cross-contamination,



Grindlay és munkatársai [17] vizsgálatai szerint egyes magas ionizációs energiájú elemek (Sb, Te, Au, Se, As, Hg, I és P) ionizációját elősegíti a szén jelenléte a mintában. Ezzel szemben a szén jelenléte más, hasonlóan magas ionizációs energiájú elemek (B, Os, Pt, Ir, Cd, Be, Zn, és S) jelenlétét nem befolyásolja, nagyobb gázáramlási sebesség és két különböző típusú tömegspektrométer összehasonlításakor sem. Megállapították azt is, hogy a szénforrás jellege is befolyásolhatja az ionizációt, ugyanis egyes elemeknél eltérő hatás tapasztalható metanol vagy illékony szerves komponens jelenlétében.

#### 4. Sztenderd addíció

Sztenderd addíciós technikával hatékonyan ki lehet küszöbölni a minta mátrixhatását a minta többszöri spike-olásával. A módszer lényege az, hogy első lépésben a készülékbe be kell porlasztani a spike-olatlan oldatot, vagyis a mintából meg kell határozni kívánt elemek mennyiségét (ez esetben a „vak” minta a spike-olatlan minta oldata). Ezt követően ismert koncentrációban kell hozzáadni a mintához a mérni kívánt elemeket (spike), amit újabb mérés követ. Néhány különböző koncentrációban spike-olt minta elemtartalmának mérése után tulajdonképpen egy kalibrációs egyenest kapunk. Az egyenes meredeksége és a tengelymetszet helye alapján meghatározható a mintában lévő vizsgált elem koncentrációja [18]. Katona és munkatársai [6] vizsgálatában a sztenderd addíció kielégítő pontossággal hozta a borok roncsolásának eredményeit a legtöbb elem esetében. Elmondható, hogy talán az egyik legpontosabb eredményt szolgáltatja, ám nagyszámú minta elemzésére nem alkalmas módszer, mivel időigényes és költséges [15].

#### 5. A mátrix eltávolítása

A mátrix eltávolítás többféleképpen valósítható meg. A bor bepárlása során az illékony szerves komponensek, főleg az etanol eltávolítása a cél, amely a legnagyobb szénforrást jelenti. Katona és munkatársai [6] ugyan a bepárlást követően még roncsolták is a mintát, eredményeik alapján azonban egyes elemek illékonyasága révén (As, Cd, Zn, Ni) veszteség lépett fel, és az eredmény torzítottá vált.

A membránnal kiegészített mikro-koncentrikus porlasztó képes eltávolítani a mintából a szerves oldószereket (etanolt), ezáltal megszünteti az általa okozott spektrális és nem spektrális zavarást. Castiñeira és munkatársai [19] MCN-6000 típusú mikro-koncentrikus porlasztóval végzett vizsgálatai rámutattak, hogy ugyan az etanol hatását szinte teljes mértékben kiküszöböli a borokból a porlasztó, ám egyéb szerves és szervesetlen komponensek mátrixhatását nem. Emellett érzékenységszökkenést is tapasztaltak, ami miatt használatát elvetették.

További mátrix-eltávolítási lehetőséget jelent tejsav a Ca-tartalom és a fehérjék kicsapása oxálsav és cc. HNO<sub>3</sub> hozzáadásával, majd a csapadék eltávolítása centrifugálással és szűréssel. Bizonyos elemek (As, Se, Co, Ni) ezzel a módszerrel gyorsan meghatá-

rozhatóvá váltak, ugyanakkor számos elem részben vagy egészben eltávolításra került a csapadékkal (Cd, Pb, Hg, Sr, Cu, Bi, Ag, stb.), emiatt csak korlátozottan használható, és nem alkalmas a mikrohullámú roncsolás kiváltására [20].

#### 6. A minta hígítása

Elmondható, hogy a mátrixhatás mértéke nem a mátrix és a meghatározandó elem relatív mennyiségétől függ, hanem az elem abszolút mennyiségétől. Így a mátrixhatás a minta hígításával exponenciálisan csökken [3]. A hígítás szükséges továbbá azért is, mert magas szervesetlen sótartalom esetén szilárdanyag kiválás léphet fel a kis átmérőjű (0,6-1,2 mm) kónuszok nyílásán, ezért lehetőleg 0,2% alatt kell tartani azt, de az is megemlíthető, hogy néhány mintánál ennél magasabb koncentráció sem okoz gondot, mivel a lerakódás kialakulása a szervesetlen anyagok minőségétől is függ [16].

A hígítás gyakran alkalmazott eljárás folyékony minták direkt mintabevitelű mérésénél, főleg azok szervesanyag-tartalma miatt. Jellemzően a borok 2-10-szeres hígítása terjedt el, de sörök esetében alkalmaztak már 10-szeres, gyümölcsleveknél 10-szeres, ill. 20-szoros hígítást (**2. táblázat**). A hígítást leggyakrabban ionmentes vízzel végzik, melyet 0,1-2%-os HNO<sub>3</sub> oldattal egészítenek ki. Tejsavó 5-szörös hígítása során, Martino és munkatársai [21] jó eredményeket értek el egyéb korrekciós tényezők alkalmazása mellett (**2. táblázat**), ugyanakkor Cava-Montesinos és munkatársai [22] eredményei szisztematikus negatív hibát mutattak tejsavó esetében, hasonló módszer mellett. Ugyanakkor szobahőmérsékleten, ultrahangos fürdőben történő kezeléssel kiegészítve, az ionmentes víz és HNO<sub>3</sub> hozzáadásával végzett 10-szeres hígításos minta-előkészítés, a mikrohullámú roncsolással egyező eredményt [22]. Megemlíthető, hogy tej mérésénél ICP-OES esetében a hígítás mellett Hua és munkatársai [23] EDTA, mint diszpergálószer, McKinsty és munkatársai [24] pedig Triton X-100 hozzáadásával végezték mérésüket, ICP-MS használatával pedig amin-oldattal történő hígítás bizonyult alkalmasnak [25].

#### 7. Belső sztenderd használata

ICP-MS esetében, multielemes technika lévén, lehetséges a mérések pontosságának javítása, az érzékenységváltozás („drift”) kiküszöbölése és a fizikai mátrix-hatások korrigálása belső sztenderd elem, illetve elemek használatával [26]. Az analízis vonatkozásában ez azt jelenti, hogy kiválasztunk egy olyan elemet, vagy elemeket, amely (amelyek) elhanyagolhatóan kis mennyiségben van (vannak) jelen a vizsgálandó mintában. Ezek ismert és megfelelően nagy mennyiségű adjuk hozzá az analitikai vakhoz, a kalibráló sorhoz és a mérendő oldathoz, majd a belső sztenderd elem intenzitásváltozása alapján korrigáljuk a többi elem mért jelintenzitását [18]. A belső sztenderd használatával korrigálható többek között a kónuszban lévő lerakódás miatt bekövetkező érzékenységváltozás, így nem válik szükségessé a minta

hígítása. Ugyanakkor a hígítással javítható a jelintenzitás-változás mértéke [44]. Lényeges szempont még, hogy a minta az előkészítés során ne szennyeződjék a választott belső sztenderdként használt elemmel, valamint a belső sztenderdek választott elem, ne okozzon spektrális zavarást a mérendő elemek spektrumában és rajta se lépjen fel spektrális zavarás.

A készüléket és a mérést vezérlő szoftverek általában lehetőséget nyújtanak minden egyes mérendő elem - belső sztenderd pár beállítására. Egyes vezérlőszoftverek lehetővé teszik azt is, hogy egy mérendő elem meghatározása során több belső sztenderdet is figyelembe vehessünk. Vizsgálatok tárgyát képezi a megfelelő belső sztenderd - analit pár kiválasztása [26], [27] melynél figyelembe veendő pl. a tömeg [28], az ionizációs potenciál, a kémiai viselkedés [29], valamint egyéb tulajdonságok is [26]. Ugyanakkor, ha az összes mérendő elemre mindössze egy belső sztenderdet választunk ki, akár rosszabb eredményt is kaphatunk egyes elemekre, ahhoz képest mintha nem alkalmaztunk volna korrekciót [26].

Roncsolás elhagyása esetén gyakran alkalmazott belső sztenderd a Rh [30], [31] Rh és Tl [32], Rh és Ir [33], In [34], [35] ill. Rh és In [36]. Emellett előfordulhat kettőnél több belső sztenderd egyidejű alkalmazása is [21], [37].

## 8. Mátrixillesztés

A mátrixillesztésnél a kalibrációs sor összetételét a mérendő mintához hasonlóvá alakítják. Ezáltal a belső sztenderdek kisebb mértékben kell korigálnia a driftet és a mátrixhatásokat. Boroknál leggyakrabban etanolt használnak, az alkalmazott hígítástól függő koncentrációban [30], [36], [35].

Irodalmi előtanulmányaink során nem találtunk olyan szakirodalmi hivatkozást, amelyben az etanolon kívül más szerves komponenssel számolnának, amelyek esetleg más befolyásoló tényezőként viselkednének, mint pl. a glicerin, szerves savak, vagy a cukrok. Gyümölcslevek ICP-MS mérésénél nem jellemző a mátrixillesztés, de használtak már ICP-OES esetében mátrixillesztésre glükózt, fruktózt és szaharózt is [38]. Az alkalmazott mátrixillesztések a **2. táblázatban** láthatóak.

## 9. Oxigén-bevezetés

Nagy szervesanyag-tartalmú kőolajipari termékek direkt mintabeviteli mérése esetében [39], ill. HPLC-ICP-MS-nél [40] használják főleg ezt a megoldást, de lehetősége folyékony élelmiszereknél is fennáll. Megszünteti ugyanis a mintázó és mérítő kónuszon lerakódott szénréteget, ezáltal a mérés időtartama alatt a tömegspektrométerbe jutó minta mennyisége folyamatosan nem csökken. Ugyanakkor a porlasztógázzal bejuttatott oxigéngáz a nikkel kónuszok károsodását idézheti elő [41]. Az oxigén bejuttatásával emellett megnőhet a spektrális zavarást képező, oxigénhez köthető poliadduktumok mennyisége.

## 10. Mikro mennyiségű mintabeviteli rendszer

Cheng és munkatársai [41] olyan mintabeviteli rendszert szerkesztettek, amellyel kis, mikroliternyi mennyiségben

minimalizes analyte loss, and eliminates the need for the use of hazardous or corrosive chemicals.

However, the remaining organic matrix can affect:

- sample nebulization efficiency,
- sample transport into the plasma [14], [15],
- deposit formation in the plasma torch and the ion optics [15],
- the diameter of the sample cone opening, thus decreasing the amount of ions reaching the mass analyzer [16],
- the degree of ionization of certain elements with high ionization energies (e.g. As, Se) [14].

According to the studies of Grindlay et al. [17], ionization of certain elements with high ionization energies (Sb, Te, Au, Se, As, Hg, I and P) is aided by the presence of carbon in the sample. On the other hand, signal intensities of other elements with similarly high ionization energies (B, Os, Pt, Ir, Cd, Be, Zn, and S) are not influenced by the presence of carbon, even at higher gas flow rates or when comparing two different types of mass spectrometers. They also found that the nature of the carbon source can have an effect on the ionization, because, in case of certain elements, the effect was different in the presence of methanol and other volatile organic components.

## 4. Standard addition

The standard addition technique efficiently eliminates the matrix effect of the sample by multiple spiking of the sample. The essence of the method is that, in the first step, the solution is nebulized into the instrument without spiking, so concentrations of the required elements in the sample are determined (in this case, the „blank” sample is the sample solution without spiking). Next, known concentrations of the elements to be analyzed are added (spike), followed by another measurement. After measurement of the element content of the sample spiked with several different concentrations, basically a calibration curve is obtained. Concentration in the sample of the element to be analyzed is determined by the slope and the intercept of the line [18]. In the study of Katona et al. [6], the match between the results of standard addition and digestion of wines was satisfactory for most elements. It can be stated that this method provides probably the most accurate results, but it is unsuitable for the analysis of a large number of samples because it is time-consuming and costly [15].

## 5. Matrix removal

Matrix removal can be achieved in several ways. During evaporation of wine, the objective is to remove volatile organic components, mainly ethanol, which represents the largest source of carbon. The sample was also digested after evaporation by Katona et al. [6], however, based on their results, results were inaccurate due to the volatility of certain elements (As, Cd, Zn, Ni) which resulted in losses.

A microconcentric nebulizer complemented by a membrane can remove organic solvents (ethanol) from the sample, thus eliminating spectral and non-spectral interferences caused by them. Experiments of Castiñeira et al. [19] with an MCN-6000 microconcentric nebulizer showed that the effect of ethanol in wines

kínai rizsbort (8-16% etanol-tartalom, akár 100 g/l fölötti cukortartalom) juttattak be az ICP-MS-be. Ezáltal a plazmában csökken a zavarást okozó szén mennyisége, és bejutott analit mennyisége is. Ennek ellenére méréseik szerint a Cd és Pb esetében kielégítő volt a vizsgált mintákban a kimutatási határ.

### 11. A módszerek kombinálása

Általánosan elterjedt a minta hígítása (2-20-szoros) mellett valamilyen belső sztenderd elem (elemek) használata. Boroknál emellett a legtöbb esetben mátrixillesztett kalibrációs sort is készítenek, míg más élelmiszereknél ez nem jellemző. Ennek feltételezhetően az lehet az oka, hogy bonyolultabb mátrixokról van szó, azok „lemásolása” összetettebb feladat lenne.

A mérés pontosságát nagyban befolyásolja a plazmába bejutó minta-összetevők aránya, ezért lényeges szempont a minta homogenitása. A zsírtarta-

lommal rendelkező tej jelentheti talán a legnagyobb problémát e tekintetben. A belső sztenderd használata mellett a tej esetében szükséges lehet valamilyen diszpergálószer hozzáadása, de egy ultrahangos fürdőben végrehajtott mintakezelés is jó megoldás lehet.

A mátrix eltávolítására irányuló törekvések általában nem alkalmasak a destruktív minta-előkészítés kiváltására és multieleemes meghatározásra, ám megfelelő körültekintéssel alkalmasak lehetnek bizonyos elemek meghatározására, az élelmiszerekből.

A sztenderd addíció önmagában is működő eljárás, ám az eredmények javíthatóak belső sztenderd használatával és a minta hígításával. Talán az egyik legpontosabb eredményt szolgáltatja, ám nagyszámú minta elemzésére nem alkalmas módszer, mivel időigényes és költséges.

2. táblázat: Az alkalmazott módszerek direkt mintabevitel esetén, különböző folyékony élelmiszereknél  
Table 2: Methods applied in case of direct sample introduction, for different liquid foods

Élelmiszer Food	Hígítás mértéke (minta+ hígítószer) Dilution rate (sample+ dilution agent)	Belső sztenderd Internal standard	Mátrix-illesztés Matrix matching	Hivatkozás Reference
Bor Wine	1+1*	In	Etanol (vivőáramban)	Baxter és munkatársai [34] Baxter et al. [34]
	1+1	Rh	Etanol	Pérez-Jordán és munkatársai [30] Pérez-Jordán et al. [30]
	3+2	Rh, TI	Etanol	Iglesias és munkatársai [32] Iglesias et al. [32]
	1+9	In	Etanol	Rodriguez és munkatársai [35] Rodriguez et al. [35]
	1+9	In	-	Fiket és munkatársai [42] Fiket et al. [42]
	1+9	Rh, Ir	Etanol	Martin és munkatársai 12 [33] Martin et al. [33]
	1+9	Rh, In	Etanol	Thiel és munkatársai [36] Thiel et al. [36]
Sör / Beer	1+9	Sc, Rh, Ge, TI	-	Woods [37] / Woods [37]
Szőlőlé Grape juice	1+9	Rh	-	Toaldo [43] / Toaldo [43]
Egyéb gyümölcsle Other fruit juice	1+19	Rh	-	Tormen [31] / Tormen [31]
Tejsavó / Whey	1+4	Ga, Y, Rh, In, TI	-	Martino és munkatársai [21] Martino et al. [21]
Tej / Milk	1+4**	Rh	-	Cava-Montesinos és munkatársai [22] Cava-Montesinos et al. [22]

\* áramlásos mintabevitel (flow injection) / \* flow injection

\*\* szobahőmérsékleten ultrahangos kezeléssel kiegészítve / \*\* supplemented by ultrasonic treatment at room temperature

Összességében elmondható, hogy folyékony élelmiszerek esetében léteznek a destruktív minta-előkészítés kiváltására alkalmas egyéb módszerek, melyekkel kiküszöbölhetőek a roncsolás és hamvasztás hátrányai, úgy mint az idő- és vegyszerigény, vala-

mint a keresztszennyeződés esélye. Ezáltal idő és költséghatékony módszer állhat rendelkezésünkre, akár egy multieleemes elemtartalom-meghatározásra.



## Irodalom / References

- [1] Szebeni, A., Varga, I., Kovács, B., Tolvaj, Gy., Zalantai, A. (2011): Microanalytical Determination of Trace Elements from Liver Biopsy Materials of Patients with Chronic Diffuse Liver Diseases with Different Ultrasound Attenuation, Liver Biopsy, Hirokazu Takahashi (Ed.), ISBN: 978-953-307-644-7, InTech.
- [2] May, T.W., Wiedmeyer, R.H. (1998): A Table of Polyatomic Interferences in ICP-MS. *Atomic Spectroscopy* 19 (5), 150-155.
- [3] Bertalan, É (2006): Az induktív csatolású plazma tömegspektrometria. Az elemanalitika korszerű módszerei. Szerk. Záray Gy. Akadémiai Kiadó, Budapest. 225-283.
- [4] Mitra, S. (2003): Preparation of samples for metal analysis. *Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons. New Jersey, USA. 227-270.
- [5] Thomas, R. (2008<sup>A</sup>): Contamination Issues Associated with Sample Preparation. *Practical Guide to ICP-MS, A Tutorial for Beginners, Second Edition*. Taylor & Francis Group, New York, USA. 137-150.
- [6] Katona, R., Abrankó, L., Stefánka, Zs. (2012): Comparison of sample preparation techniques for multielemental analysis of wine samples by ICP-MS. *Acta Alimentaria* 41, 83-91.
- [7] Khan, N., Jeong, I.J., Hwang, I.M., Kim, J.S., Choi, S.H., Nho, E.Y., Choi, J.Y., Park, K.S., Kim, K.S. (2014): Analysis of minor and trace elements in milk and yogurts by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS). *Food Chemistry* 147, 220-224.
- [8] Husáková, L., Urbanová, I., Šrámková, J., Černohorský, A., Bednaříková, M., Frýdová, E., Nedělková, I., Pilařová, L. (2011): Analytical capabilities of inductively coupled plasma orthogonal acceleration time-of-flight mass spectrometry (ICP-*oa*-TOF-MS) for multi-element analysis of food and beverages. *Food Chemistry* 129, 3. 1287-1296.
- [9] Geana, I., Iordache, A., Ionette, R., Marinescu, A., Ranca, A., Culea, M. (2013): Geographical origin identification of Romanian wines by ICP-MS elemental analysis. *Food Chemistry* 138, 1125-1134.
- [10] Llorent-Martinez, E.J., Ortega-Barrales, P., de Córdova, M.L.F., Domínguez-Vidál, A., Ruiz-Medina, A. (2011): Investigation by ICP-MS of trace element levels in vegetable edible oils produced in Spain. *Food Chemistry* 127, 1257-1262.
- [11] Simpkins, W.A., Louie, H., Wu, M., Harrison, M., Goldberg, D. (2000): Trace elements in Australian orange juice and other products. *Food Chemistry* 71, 423-433.
- [12] Potortì, A.G., Bella, G.D., Turco, V.L., Rando, R., Dugo, G. (2013): Non-toxic and potentially toxic elements in Italian donkey milk by ICP-MS and multivariate

could be eliminated almost completely by the nebulizer, but not the matrix effect of other organic and inorganic components. In addition, a decreased sensitivity was experienced, therefore, its use was rejected.

Another possibility for matrix removal in the case of milk is the precipitation of the Ca and protein content by the addition of oxalic acid and cc. HNO<sub>3</sub>, followed by removal of the precipitate by centrifugation and filtration. Certain elements (As, Se, Co, Ni) can be determined quickly by this method, but many elements (Cd, Pb, Hg, Sr, Cu, Bi, Ag, etc.) were partially or completely removed with the precipitate, therefore, it can only be used in a limited way and is not suitable for replacing microwave digestion [20].

## 6. Sample dilution

It can be said that the extent of the matrix effect depends not on the relative quantities of the matrix and the element to be determined, but on the absolute quantity of the element. Therefore, the matrix effect decreases exponentially with the dilution of the sample [3]. Dilution is also necessary, because, in the case of a high inorganic salt content, solids can deposit in the openings of small diameter (0.6-1.2 mm) cones, so salt content should be kept preferably under 0.2%, but it should also be mentioned that higher concentrations do not cause problems for some samples, since formation of the deposits depends also on the nature of the inorganic substances [16].

Dilution is a procedure often used for the direct sample introduction measurement of liquid samples, especially due to their organic matter content. Typically, wines are diluted 2 to 10-fold, but dilutions of 10-fold for beers and 10 or 20-fold for fruit juices were also used (**Table 2**). Dilution is usually performed using deionized water, supplemented by a 0.1-2% HNO<sub>3</sub> solution. Good results were obtained by Martino et al. [21] when diluting whey 5-fold and applying other correction factors (**Table 2**), but the results of Cava-Montesinos et al. [22] showed a systematic negative error when using the same method for milk samples. However, 10-fold dilution sample preparation performed using deionized water and HNO<sub>3</sub>, accompanied by room temperature treatment in an ultrasonic bath, provided results identical to those obtained after microwave digestion [22]. It should be mentioned that, in addition to dilution, EDTA was added by Hua et al. [23] and Triton X-100 was added by McKinstry et al. [24] as dispersion agents when analyzing milk by ICP-OES, while dilution with an amine solution was successful when using ICP-MS [25].

## 7. Application of internal standard

Since ICP-MS is a multielement technique, increasing measurement accuracy, elimination of drifting and correction of physical matrix effects are possible using internal standard element(s) [26]. In terms of analysis, this means that an element or elements are chosen which are present in the sample to be analyzed in negligible amounts. Known and suitably large amounts of these are added to the analytical blank, the calibration set and the solution to be analyzed, and measured signal intensities of the other elements are corrected according to the signal intensity change of the internal standard element [18].

analysis. *Journal of Food Composition and Analysis* 31, 161-172.

[13] Welna, M., Szymczycha-Madeja, A., Pohl, P. (2011): Quality of the trace element analysis: sample preparation steps. Akýar, I.: *Wide Spectra of Quality Control*. InTech. Rijeka, Croatia. 53-70.

[14] Pettine, M., Casentini, B., Mastroianni, D., Capri, S. (2007): Dissolved inorganic carbon effect in the determination of arsenic and chromium in mineral waters by inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 599, 191-198.

[15] Grindlay, G., Mora, J., Maestra, S., Gras, L. (2008): Application of a microwave-based desolvation system for multi-elemental analysis of wine by inductively coupled plasma based techniques. *Analytica Chimica Acta* 629, 24-37.

[16] Thomas, R. (2008<sup>B</sup>): *Sample Introduction. Practical Guide to ICP-MS, A Tutorial for Beginners*, Second Edition. Taylor & Francis Group, New York, USA. 13-22.

[17] Grindlay, G., Mora, J., Loos-Vollebragt, M., Vanhaecke, F. (2013): A systematic study on the influence of carbon on the behavior of hard-to-ionize elements in inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B* 86, 42-49.

[18] Thomas, R. (2008<sup>C</sup>): *Methods of Quantitation. Practical Guide to ICP-MS, A Tutorial for Beginners*, Second Edition. Taylor & Francis Group, New York, USA. 115-124.

[19] Castiñeira, M.M., Brandt, R., von Bohlen, A., Jakubowski, N. (2001): Development of a procedure for the multi-element determination of trace elements in wine by ICP-MS. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 370, 553-558.

[20] Husáková, L., Urbanová, I., Šrámková, J., Konečná, M., Bohuslavová, J. (2013): Multi-element analysis of milk by ICP-TOF-MS after precipitation of calcium and proteins by oxalic and nitric acid. *Talanta* 106, 66-72.

[21] Martino, F.A.R., Sánchez, M.L.F., Medal, A.S. (2000): Total determination of essential and toxic elements in milk whey by double focusing ICP-MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 15, 163-168.

[22] Cava-Montesinos, P., Cervera, M.L., Pastor, A., de la Guardia, M. (2005): Room temperature acid sonication ICP-MS multielemental analysis of milk. *Analytica Chimica Acta* 531, 111-123.

[23] Hua, K.K., Kay, M., Indyk, H.E. (2000): Nutritional element analysis in infant formulas by direct dispersion and inductively coupled plasma-optical emission spectrometry. *Food Chemistry* 68, 463-470.

[24] McKinstry, P.J., Indyk, H.E., Kim, N.D. (1999): The determination of major and minor elements in

milk and infant formula by slurry nebulisation and inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES). *Food Chemistry* 65, 245-252.

[25] Nóbrega, J.A., Gélinas, Y., Krushevska, A., Barnes, R.M. (1999): Direct Determination of Major and Trace Elements in Milk by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission and Mass Spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 12, 1243-1246.

[26] Finley-Jones, H.J., Molloy, J.L., Holcombe, J.A. (2008): Choosing internal standards based on a multivariate analysis approach with ICP(TOF)MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 23, 1214-1222.

[27] Soós, Á., András, D., Kovács, B. (2014): Evaluation of internal standards and calibration methods in measurement of micro-elements in wines with direct analysis by ICP-MS. 28th ISMAS Symposium cum Workshop on Mass Spectrometry, 208-211.

[28] Vanhaecke, F., Vanhoe, H., Dams, R. (1992): The use of internal standards in ICP-MS. *Talanta* 39 (7), 737-742.

[29] Nelms, S.M. (2005): *Calibration Strategies and Quality Assurance. Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry Handbook*. Blackwell Publishing, Oxford, UK. 147-181.

[30] Pérez-Jordán, M.Y., Soldevila, J., Salvador, A., Pastor, A., de la Guardia, M. (1999): Inductively coupled plasma mass spectrometry analysis of wines. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 14 (1), 33-39.

[31] Tormen, L., Torres, D.P., Dittert, I.M., Araújo, R.G.O., Frescura, V.L.A., Curtius, A.J. (2011): Rapid assessment of metal contamination in commercial fruit juices by inductively coupled mass spectrometry after a simple dilution. *Journal of Food Composition and Analysis* 24, 95-102.

[32] Iglesias, M., Besalú, E., Anticó, E. (2007): Internal standardization-atomic spectrometry and geographical pattern recognition techniques for the multi-element analysis and classification of Catalan red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 219-225.

[33] Martin, A.E., Watling, R.J., Lee, G.S. (2012): The multi-element determination and regional discrimination of Australian wines. *Food Chemistry* 133 (3), 1081-1089.

[34] Baxter, M.J., Crews, H.M., Dennis, M.J., Goodall, I., Anderson, D. (1997): The determination of the authenticity of wine from its trace element composition. *Food Chemistry* 60 (3), 443-450.

[35] Rodriguez, S.M., Otero, M., Alves, A.A., Coimbra, J., Coimbra, M.A., Pereira, E., Duarte, A.C. (2011): Elemental analysis for categorization of wines and authentication of their certified brand of origin. *Journal of Food Composition and Analysis* 24, 548-562.

[36] Thiel, G., Geisler, G., Blechschmidt, I., Danzer, K. (2004): Determination of trace elements in wines and classification according to their provenance. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 378, 1630-1636.

[37] Woods, G. (2002): Analysis of beer by ICP-MS. *Agilent ICP-MS Journal* 14, 4.

[38] Cindrić, I.J., Zeiner, M., Kröppl, M., Stringeder, G. (2011): Comparison of sample preparation methods for the ICP-AES determination of minor and major elements in clarified apple juices. *Microchemical Journal* 99, 364-369.

[39] Caumette, G., Lienemann, P., L., Merdrignac, I., Paucot, H., Bouyssiere, B., Lobinski, R. (2009): Sensitivity improvement in ICP MS analysis of fuels and light petroleum matrices using a microflow nebuliser and a heated spray chamber sample introduction. *Talanta* 80, 1039-1043.

[40] Thomas, R. (2008<sup>o</sup>): *Coupling with Chromatographic Techniques for Trace Element Speciation Studies Practical Guide to ICP-MS, A Tutorial for Beginners*, Second Edition. Taylor & Francis Group, New York, USA. 187-202.

[41] Cheng, H., Liu, J., Xu, Z., Yin, X. (2012): A micro-fluidic sub-microliter sample introduction system for direct analysis of Chinese rice wine by inductively coupled plasma mass spectrometry using external aqueous calibration. *Spectrochimica Acta Part B* 73, 55-61.

[42] Fiket, Ž., Mikac, N., Kniewald, G. (2011): Arsenic and other trace elements in wines of eastern Croatia. *Food Chemistry* 126, 941-947.

[43] Toaldo, I.M., Fogolari, O., Pimentel, G.C., de Gois, J.S., Borges, D.L.G., Caliari, V., Bordignon-Luiz, M. (2013): Effect of grape seeds on the polyphenol bioactive content and elemental composition by ICP-MS of grape juices from *Vitis labrusca* L. *LWT - Food Science and Technology* 53, 1-8.

[44] Taylor, H.E. (2001): *Quantitation Techniques. Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometry, Practices and Techniques*. Academic Press. Orlando, USA. 104-125.

### Köszönetnyilvánítás

A publikáció 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.

Changes in sensitivity due to deposits on the cone can be corrected using internal standards, among other things, therefore, dilution of the sample becomes unnecessary. However, the extent of the change in signal intensity can be improved by dilution [44]. Other important aspects to consider are that the sample should not be contaminated by the element chosen as the internal standard during sample preparation, the element chosen as the internal standard should not cause spectral interferences in the spectra of the elements to be analyzed, and there should be no spectral interference for the internal standard element either.

Generally, the instrument and measurement control software makes it possible to select any possible combination of element to be analyzed / internal standard. Some control software products even make it possible to consider several internal standards when measuring the element to be analyzed. Selection of the appropriate internal standard – analyte combination was also investigated [26], [27], taking into consideration, for example, the mass [28], the ionization potential and chemical behavior [29], as well as other properties [26]. However, if only a single internal standard is selected for all elements to be analyzed, results of the individual elements can even be worse than without applying a correction [26].

Internal standards that are often used when omitting digestion include Rh [30], [31] Rh and Tl [32], Rh and Ir [33], In [34], [35] or Rh and In [36]. Simultaneous application of more than two internal standards is also customary [21], [37].

### 8. Matrix matching

When performing matrix matching, the composition of the calibration set is made similar to that of the sample to be analyzed. Thus, drifting and matrix effects have to be corrected less by the internal standard. In the case of wines, ethanol is used most often, in concentrations depending on the dilutions used [30], [36], [35].

When surveying the literature, no reference was found where organic components other than ethanol were considered as influencing factors, for example, glycerol, organic acids or sugars. Matrix matching is not typical for the ICP-MS analysis of fruit juices, but glucose, fructose and sucrose have already been used for ICP-OES [38]. The list of matrix matching examples are found in **Table 2**.

### 9. Oxygen addition

This solution is applied mainly when analyzing petroleum products of high organic matter content by direct sample introduction [39], or in the case of HPLC-ICP-MS [40], but it is possible to use it for liquid foods as well. It eliminates the carbon layer deposited on sample and skimmer cones, therefore, the amount of sample entering the mass spectrometer does not decrease continuously during the measurement. However, the oxygen gas introduced together with the nebulizer gas might damage nickel cones [41]. In addition, introduction of oxygen can also increase the amount of polyadducts causing spectral interference.

### 10. Micro amount sample introduction system



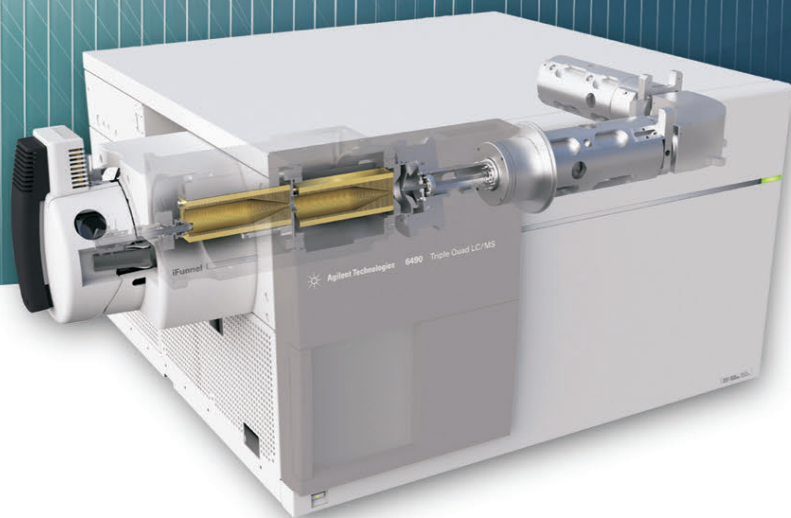


Agilent Technologies

# 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 fókuszlású ionforrással,
- Nagyhatékonyságú hexabore mintavételi kapilláris,
- Kétlépcsős ion tükör a nagyobb tömegfelbontás érdekében,
- Automatizált multi-komponens tuning mód.



kr<sup>o</sup>mat

**Termékeinkről bővebb tájékoztatást az alábbi elérhetőségeken:**

**Kromat Kft.** • 1112 Budapest, Péterhegyi út 98. • Telefon: 248-2110  
Fax: 319-8574 • E-mail: [info@kromat.hu](mailto:info@kromat.hu) • [www.kromat.hu](http://www.kromat.hu)



A sample introduction system able to introduce microliter quantities of Chinese rice wine (with 8 to 16% ethanol content and sugar content even in excess of 100 g/l) into the ICP-MS was constructed by Cheng et al. [41]. Thus, both the amount of carbon in the plasma causing interference and the analyte introduced was decreased. Nevertheless, according to their measurements, detection limits for Cd and Pb were satisfactory in the samples analyzed.

### 11. Combination of methods

A widespread method is the use of internal standard elements, in addition to dilution of the sample (2 to 20-fold). In the case of wines, a matrix matched calibration set is also prepared in most cases, while this is not typical for other foods. The reason for this supposedly lies in the fact that their matrices are more complex, and to „copy” them would be a more complicated task.

Accuracy of the measurement is greatly affected by the ratio of sample components entering the plasma, therefore, sample homogeneity is of utmost importance. Possibly the biggest problem in this respect is posed by the fat content of milk. In addition to using an internal standard, addition of a dispersing agent might be necessary for milk, but sample treatment in an ultrasonic bath can be a good solution as well.

Efforts to remove the matrix are usually not suitable for the replacement of destructive sample preparation and multielement analysis, but can be suitable for the determination of certain elements in foods, using proper caution.

Standard addition is a method that works well in itself, but results can be improved by the use of internal standards and sample dilution. This method provides probably the most accurate results, but it is unsuitable for the analysis of a large number of samples because it is time-consuming and costly.

Table 2: Methods applied in case of direct sample introduction, for different liquid foods

Overall, it can be stated that there are other methods suitable for the replacement of destructive sample preparation methods for liquid foods, which can be used to eliminate the disadvantages of dry ashing and wet digestion, such as the high demand for time and chemicals, and the risk of cross-contamination. Thus, time and cost-effective methods are available, even for multielement analyses.

### Acknowledgements

This publication was made possible with the support of the European Union and Hungary, with the co-financing of the European Social Fund, within the framework of priority project TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 entitled „National Program of Excellence – Elaborating and Operating an Inland Student and Researcher Personal Support System convergence program”.

## LC-MS/MS módszerek alkalmazása az élelmiszeralitikában (részlet)

dr. Tölgyesi Ádám, NÉBIH

Az élelmiszer minták összetételüket tekintve a legkomplexebb mátrixok közé tartoznak így a mai modern élelmiszeralitikai meghatározások megkövetelik a legpontosabb, legszelektívebb és legérzékenyebb technikák alkalmazását. A mátrixoktól a reziduumok elválasztása sok esetben kapcsolt technikák (LC-MS/MS QQQ) alkalmazását igényli, melyek 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). Laboratóriumunkban a CAP szűrő mérése (screening) enzimmérési 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 nyomny kimutatására.



krōmat







Szilvássy Blanka<sup>1</sup>, Schreiberne Molnár Erzsébet<sup>1</sup>, Iglóváriné Molnár Mária<sup>1</sup>

Érkezett/Received: 2014. március/March – Elfogadva/Accepted: 2014. április/April

# Taurintartalom meghatározása energialevekben és étrendkiegészítőkben HPLC-MS/MS-műszerkapcsolással

**Kulcsszavak:** taurin, energialevek, HPLC, MS

## Összefoglalás

Napjainkban a kevés alvásnak, a rohanó életmódnak, a sok stressznek és a vitaminhiánynak köszönhetően az emberek kimerültebbek és fáradtabbak. Ez is az egyik oka az energialevek egyre nagyobb népszerűségének. Míg kifejlesztésének kezdetén csak patikában lehetett hozzájutni kis mennyiségekben, manapság akár 2 literes kiszerezésekkel is találkozhatunk a boltok polcain. Mivel a termékekben lévő hatóanyagok mennyisége és a kiszérés mérete sokszor nincs összhangban, ezen adalékanyagok túlzott bevitele akár mindennapos is lehet. Ez hosszú távon mindenképp ártalmas az egészségre, de akár az egyszeri túladagolás is okozhat panaszokat. Az energialevekben a koffein mellett a taurin a leggyakoribb hatóanyag, amely - bár megtalálható a szervezetben - túlzott fogyasztása káros lehet az egészségre.

Annak érdekében, hogy figyelemmel tudjuk kísérni a termékek taurintartalmát, olyan módszert kellett kifejleszteni, amellyel nagy mintamennyiség esetén is gyors és pontos méréseket végezhetünk. Ehhez HPLC-MS/MS műszerkapcsolás nyújtott segítséget.

## 2. Bevezetés és irodalmi áttekintés

Az energialevek az 1900 évek elején jelentek meg. Akkoriban ezek a termékek még gyógyászati célokat szolgáltak. Vitaminokat és taurint tartalmaztak, és roboráló, illetve koncentrációt segítő szerként alkalmazták azokat [1]. Ezeket a termékeket akkoriban még csak gyógyszertárakban lehetett kapni. A mai energialevek alapötlete a Red Bull-alapítójának a nevéhez fűződik. A „Vörös Bika” gyorsan meghódította Európát és Amerikát, Magyarországra a kilencvenes évek elején jutott el, majd számos új márka is követte. Az energialeveknek napjainkban már több mint 300 fajtája létezik világszerte.

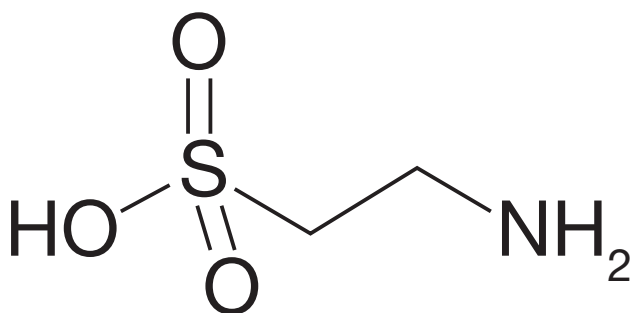
Hazánkban sem törvényileg, sem az élelmiszerkönyvben nem található definíció az energialevekre vonatkozólag. Ezt a kategóriát gyakorlatilag kizárólag az adózási szabályok határozzák meg. A fogyasztás azonban évről évre nagyobb, nemcsak a felnőttek, de sajnos a tinédzserek, illetve a gyerekek körében is, akik akár literes mennyiséget is elfogyaszthatnak egy nap alatt. Mivel ezekben a termékekben magas a koffein illetve az egyéb metilxantin (teofillin, teobromin stb.) és más stimuláló anyagok (taurin, glukorolakton stb.) koncentrációja, továbbá nagy víziglyázható

vitamin tartalommal (1 doboz fedezi a napi ajánlott bevitel 100%-át) és egyéb növényi kivonatokkal rendelkezők, a mértéktelen fogyasztásuk súlyos egészségügyi problémákhoz vagy akár halálhoz is vezethet. Számos kutatás azt is bizonyította, hogy ha alkohollal keverik ezeket a termékeket, az különösen veszélyes lehet az egészségre nézve főként a koffein és a taurin alkohollal való együttes hatása miatt [2]. 2011 és 2012 között az ÁNTSZ-hez 232 energialevek-fogyasztással összefüggésbe hozható rosszulérről érkezett bejelentés, amelyek 77%-a 18 év alatti fiatal, 4%-a pedig 8-10 éves gyermek volt. Az elfogyasztott energialevek mennyisége 2 dl-től 3 literig terjedt, amelyet sokszor alkohollal együtt fogyasztottak. A koffeinről és annak hatásáról már számos tanulmány született, amelyekből kiderül, hogy a túlzott fogyasztás ártalmas lehet. A taurin azonban még nem ennyire ismert az emberek körében. A taurin (**1 ábra**) - más néven 2-aminoetán-szulfonsav - egy nem fehérjeépítő aminosav. Fő funkciója a vérben lévő víz és az ásványi sók szintjének szabályozása, továbbá elősegíti a glükóz sejtekbe áramlását, ezáltal nő a fizikai teljesítőképesség. Bár a szervezetben megtalálható vegyületről van szó, nagy mennyiségben való fogyasztás esetén túlterheli a veséket, **továbbá** néhány esetben hasfájást, rosszuléret, függőséget okoz, és hashajtó

<sup>1</sup> Országos Élelmezés- és Táplálkozástudományi Intézet Élelmiszerkémiai-Analitikai Főosztály

<sup>1</sup> National Institute for Food and Nutrition Science, Department of Food Chemistry and Analysis

hatása is lehet. Egy jelentés szerint már napi 3 doboz energiával taurin mennyisége is képes neurológiai tüneteket okozni, ám ezek a tünetek enyhék, gyorsan eltűnnek. Főleg vesebetegek számára lehet veszélyforrás ilyen mennyiségben [3].



1. Ábra: A taurin szerkezeti képlete (Mol.t.: 125 g/mol;  $C_2H_7NO_3S$ )

Figure 1: Structural formula of taurine (MW: 125 g/mol;  $C_2H_7NO_3S$ )

A taurin mennyiségét a készítményekben az 1990-es évek előtt aminosav-analizátorral mérték, de ennek a technikának sem a szelektivitása, sem az érzékenysége nem volt kielégítő. Később a fordított fázisú HPLC-technikák kerültek előtérbe, amelyekhez származékképzés szükséges. Az irodalomban sok fajta származékképző előfordul. Ilyen például a DNFB (1-Fluoro-2,4-dinitrobenzene) és a DABS-Cl (4-(Dimethylamino)azobenzene-4'-sulfonil chloride), amelyek esetében UV detektálást használnak, illetve az OPA (orto-ftál-aldehid), a Dansyl-Cl (5-(dimethylamino)naphthalene-1-sulfonil chloride) és a fluorescamin, amelyeknél fluoreszcens detektorral mérnek. Azonban a származékképző módszerek (így a gázkromatográfia is) vegyszer- és sok esetben időigényes folyamatok, illetve kérdéses a származékképzés hatékonysága és a származék stabilitása is. Az elválasztási technikák közül az irodalomban még megtalálható a HPLC-ICP-AES illetve HPLC-FT-IR, amelyeket – bár hatékonyak lehetnek – nem használják széles körben a rendszer bonyolultsága miatt [4]. A HPLC-MS/MS módszert már számos vizsgálatban hatékonyan használták úgy biológiai mintáknál, mint élelmiszernél vagy étrend-kiegészítőnél. A módszer fejlesztéséhez kiindulási alapként Rodrigo és munkatársai Fast Analysis of Taurine in Energetic Drinks by Electrospray Ionization Mass Spectrometry című cikke szolgált [5]. A módszer validálását az energiávalokon túl taurintartalmú pezsgőtablettára és tablettára is elvégeztük.

### 3. Anyag és módszer

A mérésekhez metanolt (Merck, Darmstadt, Germany) deszillált vizet, és taurin standardot (Sigma, St. Louis, MO, United States of America) hasztáltunk. A HPLC Perkin Elmer, Flexar típusú, a tömegspektrométer AB Sciex API 2000 típusú volt. Az elválasztást Phenomenex C18 150 x 4,6 mm, 4 $\mu$ m oszloppal végeztük.

A törzsoldat készítéséhez analitikai mérlegen kimérünk 0,025g taurin standardot és 25 cm<sup>3</sup> barna mérőlombikba mossuk 15 ml 60 °C-os desztillált vízzel, összerázzuk, lehűtjük majd jelig töltjük a mérőlombikot, és az elkészült oldatot homogenizáljuk.

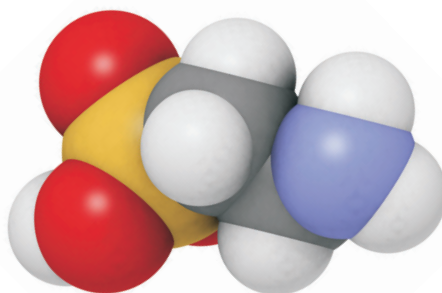
A mintaelőkészítés során a 2-3 pezsgőtablettát, illetve tablettát bemérés előtt dörzsmozsárban homogenizálunk. A minta taurin tartalmától függően analitikai mérlegen kimérünk kb. 1g mintát, amelyet 60 °C-os desztillált vízben oldunk barna mérőlombikban. Az összerázást követően az oldatot 10 percre ultrahangos fürdőbe tettük, majd szobahőmérsékletre hűtöttük és a lombikot desztillált vízzel jelre töltöttük. A további hígítást 50:50 metanol:desztillált vízzel végeztük.

Az oldatot Vortexen homogenizáltuk és 0,45 $\mu$ m-es PTFE fecskendő szűrőn 1,5 ml-es barna mintatartó edénybe szűrtük át. Az energiávalok esetében a mintát Erlenmeyer lombikba öntöttük, majd 30-40 percre szobahőmérsékletű ultrahangfürdőbe helyeztük a folyadékban oldott széndioxid kihajtása céljából. A széndioxid kiűzését követően, kb. 1,0 ml mintát pipettázunk át egy barna mérőlombikba, majd desztillált vízzel jelre töltöttük és homogenizáltuk. A további hígítást itt is 50:50 metanol:desztillált vízzel végeztük, majd az oldatot 0,45 $\mu$ m-es PTFE fecskendő szűrővel 1,5 ml-es barna minta-tartó edénybe szűrtük.

### 4. Eredmények

A nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiához 50:50 metanol:víz eluents alkalmaztunk, izokratikus adagolással. Az áramlási sebesség 0,4 ml/perc, az injektálás térfogata pedig 5 $\mu$ l volt. A kromatográfiai elválasztás időigénye 8 perc, amelyen belül a taurin a 4. percnél eluálódik.

A detektálás negatív ionizációval végeztük SRM-módban, ahol az anyaion [M-H]<sup>-</sup>: 124,0 molekulasúlyú taurin ionból képződő m/z 80,0 iontömegű átmenetet figyeltük. A további tömegspektrometriás körülmények a következők voltak: ionforrás feszültség: -4500V; DP: -46V, fűtő hőmérséklet: 450°C, EP: -7V; CEP: -8.0eV; CE: -5.00eV; GS1: 35 l/perc; GS2: 40 l/perc.



# Determination of the taurine content of energy drinks and dietary supplements using HPLC-MS/MS

Blanka Szilvássy<sup>1</sup>, Erzsébet Schreiberé Molnár<sup>1</sup>,  
Mária Iglóváriné Molnár<sup>1</sup>

**Keywords:** taurin, energy drink, HPLC, MS

## 1. Summary

Nowadays, due to the lack of sleep, a hectic lifestyle, lots of stress and vitamin deficiency, people are more and more exhausted and tired. This is one of the reasons of the increasing popularity of energy drinks. While at the early stage of their development, only small amounts could be bought in pharmacies, today even 2-liter bottles are available on the shelves of supermarkets. Since it is often the case that the amount of active ingredients in the products is inconsistent with the package size, therefore, excessive intake of these additives can be an everyday occurrence. This is definitely harmful to one's health in the long run, but even a single overdose can have adverse effects. The most common active ingredient in energy drinks, in addition to caffeine, is taurine whose excessive intake – even though it is found in the body – can have harmful effects.

In order to be able to monitor the taurine content of different products, a method had to be developed that is suitable for performing fast and accurate analyses, even in case of large sample numbers. This was achieved using HPLC-MS/MS.

## 2. Introduction and literature review

Energy drinks appeared in the early 1990's. At the time, these products served therapeutic purposes. They contained vitamins and taurine, and they were used as roborating agents and tools to help concentration [1]. These products then could only be bought in pharmacies. The basic idea of what are known today as energy drinks is associated with the founder of Red Bull. Red Bull quickly conquered Europe and America, reached Hungary in the early nineties, and was followed by several other brands. Today, there are more than 300 different kinds of energy drinks available worldwide.

In Hungary, there is no legal definition of energy drinks, nor there is one in the food codex. This category is almost exclusively defined by tax law. However, consumption is increasing every year not only for adults, but also among teenagers and children who can even drink liters per day. Since these products have high concentrations of caffeine and other methylxanthines (theophylline, theobromine etc.), as well as of other stimulants (taurine, gluconolactone etc.), and also have a high water-soluble vitamin content (1 can can cover 100% of the recommended daily intake) and other plant extracts, excessive consumption can lead to serious health problems, or even death. Several studies showed that these products can be particularly dangerous when mixed with alcohol, mainly because of the combined effects of caffeine, taurine and alcohol [2]. In 2011 and 2012, there were 232 cases of sickness associated with the consumption of energy drinks reported to the ÁNTSZ (National Public Health and Medical Officer Service), 77% of which were of young people under the age of 18, and 4% were of children between the ages of 8 and 10. The

amount of energy drink consumed ranged from 2 dl to 3 liters, often together with alcohol. There have been several studies about caffeine and its effects, showing that excessive consumption can be harmful. However, taurine is not as well known among people as caffeine. Taurine (**Figure 1**) – also known as 2-aminoethanesulfonic acid – is an amino acid that is not a building block of proteins. Its main function is the regulation of the water and mineral levels in blood, and it also facilitates the movement of glucose into cells, thus increasing physical capacity. Although it is a compound that is found in the body, it can overload the kidneys when consumed in large amounts, **and** can cause abdominal pain, nausea, addiction, and can also have a laxative effect. A report stated that even the daily intake of taurine found in 3 cans of energy drink can have neurological symptoms, but these symptoms are mild and disappear quickly. At this level, it can be a source of danger mainly for kidney patients [3].

*Figure 1: Structural formula of taurine (MW: 125 g/mol; C<sub>2</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>3</sub>S)*

Before the 1990s, the amount of taurine in preparations was measured using amino acid analyzers, but neither the selectivity, nor the sensitivity of this technique was satisfactory. Later on, reverse phase HPLC was the preferred technique, which required derivatization. There are many derivatizing agents in the literature. Some of them, such as DNFB (1-Fluoro-2,4-dinitrobenzene) and DABS-Cl (4-(Dimethylamino)azobenzene-4'-sulfonyl chloride) require UV detection, while others, such as OPA (orto-phthalaldehyde), Dansyl-Cl (5-(dimethylamino) naphthalene-1-sulfonyl chloride) and fluorescamine are measured using a fluorescent detector. However, derivatization methods, including gas chromatography, are chemical- and time-consuming procedures, and the efficiency of the derivatization and the stability of the derivative are also questionable. Other separation techniques that are also found in the literature include HPLC-ICP-AES and HPLC-FT-IR, which are not widely used – even though they can be effective – because of the complexity of instrumental setup [4]. The HPLC-MS/MS method, however, has been used effectively in several studies of biological samples, as well as of foods or dietary supplements. For the development of our method, the starting point was the article of Rodrigo et al. titled Fast Analysis of Taurine in Energetic Drinks by Electrospray Ionization Mass Spectrometry [5]. In addition to energy drinks, the method was also validated for analysis of taurine containing effervescent tablets and pills.

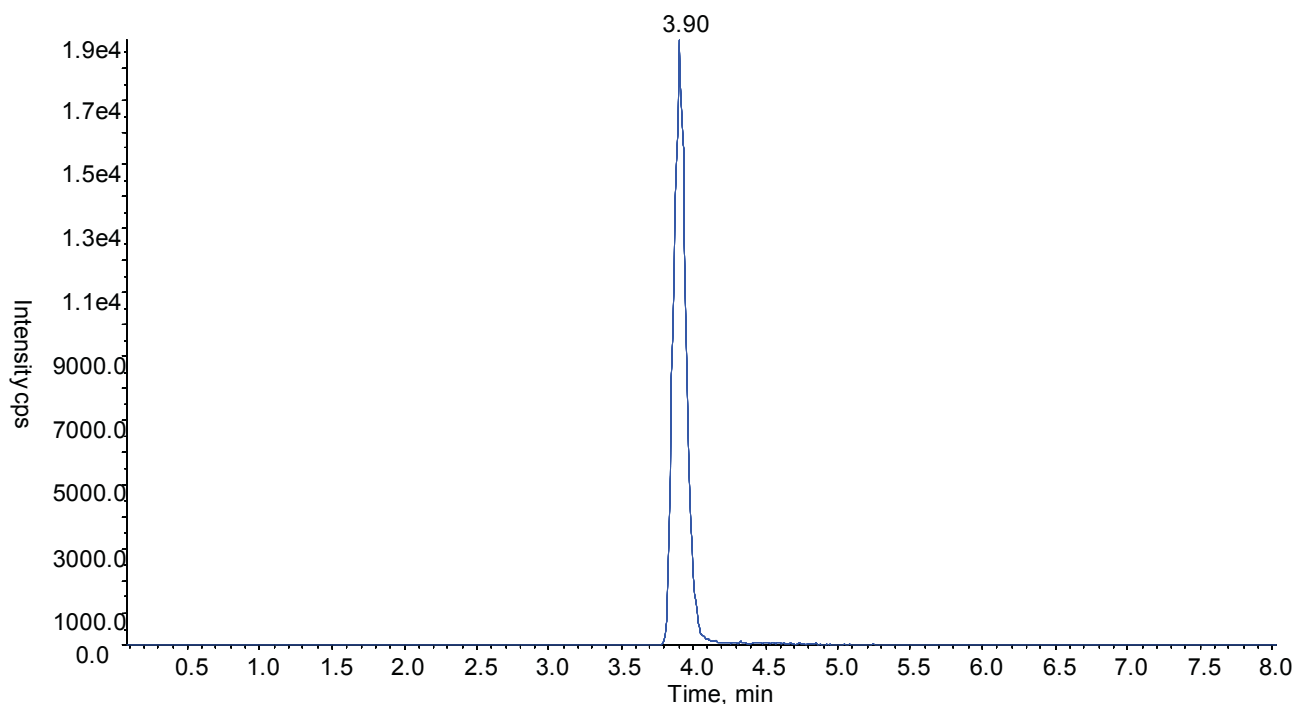
## 4. Materials and methods

Methanol (Merck, Darmstadt, Germany), distilled water and taurine standard (Sigma, St. Louis, MO, United States of America) were used for the analyses. The instruments used were a Flexar HPLC by Perkin Elmer, and an AB Sciex API 2000 mass spectrometer. Separation was performed on a Phenomenex C18 150 x 4,6 mm, 4µm column.

To prepare the stock solution, 0.025 g of taurine standard was measured using an analytical balance, washed into a 25 cm<sup>3</sup> amber volumetric flask with 15 ml of 60 °C distilled water. It was then shaken, cooled, filled to mark, and the final solution was homogenized.

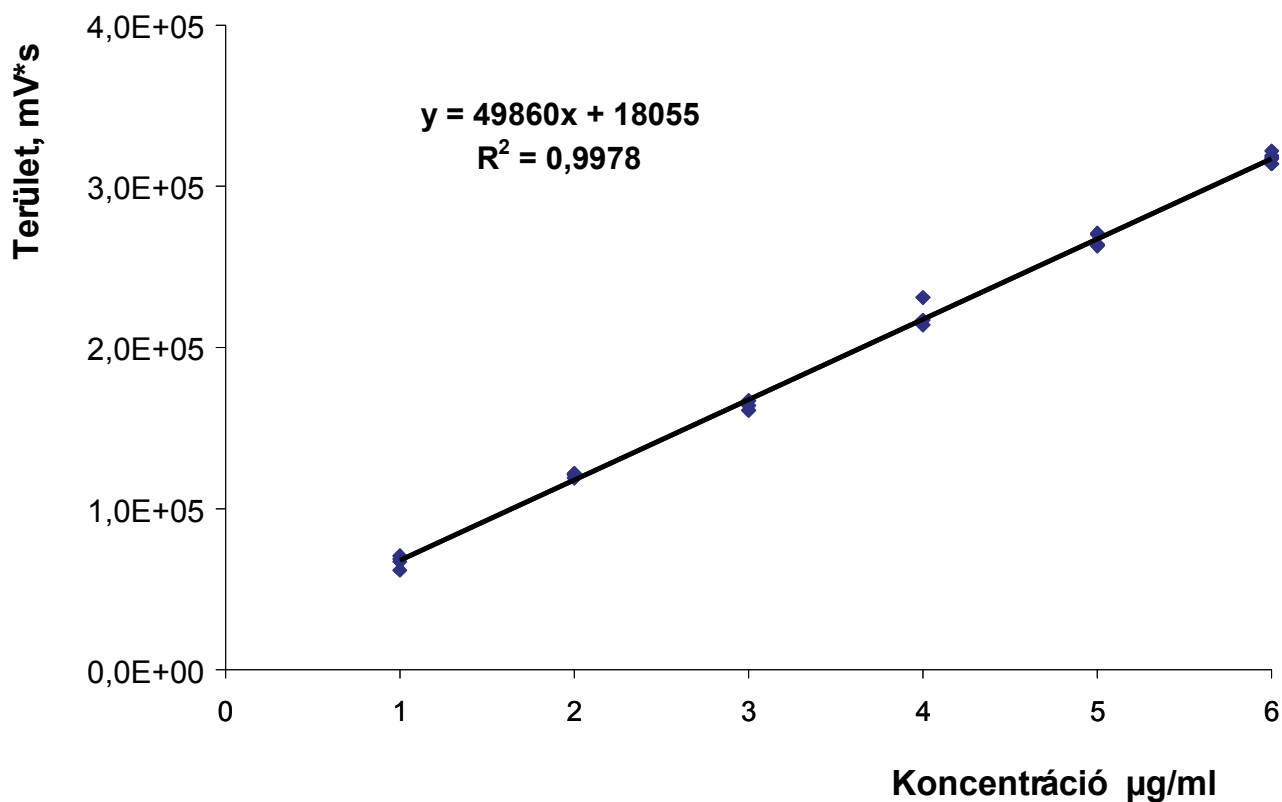
During sample preparation, 2 or 3 effervescent tablets or pills were homogenized in a mortar. Depending on the taurine content of the sample, ca. 1 g of the sample was weighed on an analytical balance, which was then dissolved in 60 °C distilled water in an amber volumetric flask. The solution was shaken and then placed in an





2. ábra: 10 mg/kg koncentrációjú taurin standard oldat kromatogramja  
Figure 2: Chromatogram of a 10 mg/kg taurin standard solution

A linearitás vizsgálatot 6 ponton, 1-6  $\mu\text{g/ml}$  koncentrációban végeztük el, pontonként 5 ismétlésben. A vizsgálat alapján a korrelációs koefficiens megfelelőnek bizonyult ( $R^2 \geq 0.995$ ). Az SRM módban felvett kromatogramot a **2. ábrán**, a kalibrációs egyenest pedig a **3. ábrán** mutatjuk be.



3. ábra: A linearitás vizsgálat során kapott standard kalibráció (n=5)  
Figure 3: Standard calibration obtained during testing for linearity (n=5)

ultrasonic bath for 10 minutes. It was then cooled to room temperature, and the flask was filled to mark with distilled water. A mixture of methanol and distilled water (50:50) was used for further dilutions. The solution was homogenized by a vortexer, and filtered into 1.5 ml amber sample vials through 0.45  $\mu\text{m}$  PTFE syringe filters. In case of energy drinks, the sample was poured into an Erlenmeyer flask, which was then placed in a room temperature ultrasonic bath for 30 to 40 minutes to remove carbon dioxide. After the removal of carbon dioxide, ca. 1.0 ml of the sample was pipetted into an amber volumetric flask, which was filled to mark with distilled water and homogenized. Once again, a mixture of methanol and distilled water (50:50) was used for further dilutions, and solutions were filtered into 1.5 ml amber sample vials through 0.45  $\mu\text{m}$  PTFE syringe filters.

## 6. Results

For high performance liquid chromatography, the eluent was methanol:water (50:50) in isocratic elution mode. The flow rate was 0.4 ml/min, and the injection volume 5  $\mu\text{l}$ . The time required for chromatographic separation was 8 minutes, and the retention time of taurine was 4 minutes. The fragment with  $m/z$  80.0, produced from the taurine parent ion  $[\text{M}-\text{H}]^-$  with a molecular weight of 124.0 was monitored, and detection was performed in SRM mode, using negative ionization. Further mass spectrometric conditions were as follows: ion source voltage: -4500 V; DP: -46 V, heating temperature: 450  $^{\circ}\text{C}$ , EP: -7 V; CEP: -8.0 eV; CE: -5.00 eV; GS1: 35 l/min; GS2: 40 l/min.

Figure 2: Chromatogram of a 10 mg/kg taurin standard solution

Linearity was tested at 6 points, in the concentration range of 1 to 6  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , with 5 replicates per point. Based on the analysis, the coefficient of correlation was adequate ( $R^2 \geq 0.995$ ). The chromatogram recorded in SRM mode is shown in **Figure 2**, while the calibration curve is shown in **Figure 3**.

Figure 3: Standard calibration obtained during testing for linearity ( $n=5$ )

The limits of detection for effervescent tablets, pills and energy drinks were 0.4 mg/100 g, 0.3 mg/100 g and 0.2 mg/100 ml, respectively.

The limits of quantification were 0.4 mg/100 g, 0.6 mg/100 g and 0.4 mg/100 ml for pills, effervescent tablets and energy drinks, respectively.

When testing repeatability, the percentage relative standard deviation was less than 5 for all three sample types.

When testing reproducibility, similar results were obtained. For analyses performed on the same day, analyses performed on different days, as well as analyses performed by different analysts, relative standard deviation was less than 10% ( $\text{RSD}\% < 10\%$ ). At this stage, variance analysis was also performed, and the results showed that there was no significant difference between the average measurement values of different days or different persons at the 95% probability level.

Accuracy was determined using two methods. On the one hand, standard addition was used, where recovery was  $100 \pm 10\%$  for each sample. On the other hand, a certified reference material was used, with an accuracy of 99%. During stability testing, a standard solution of a given concentration and a prepared sample solution were kept at room temperature protected from light, exposed to light, or in a refrigerator. Taurine content was determined at regular intervals under the given analytical conditions:

every hour on day zero, and then for at least 3 days. Results showed that standard deviation was less than 10 rel% in all cases and that, for pills, concentrations measured within the first day and concentrations measured within 4 days showed no significant differences, independent of the storage location.

For effervescent tablets, concentrations measured within a day did not show a decreasing tendency, however, concentration of the sample stored in a cabinet measured on the 3<sup>rd</sup> day was lower, albeit only by a very small amount. Taurine concentration of the sample stored in a refrigerator did not change, while the taurine content of the sample stored on the table decomposed almost completely, so in case of this type of sample, proper storage conditions should be ensured, with temperatures between 4 and 8  $^{\circ}\text{C}$  being the best. For energy drinks, no tendential changes in concentration were observed either in samples measured within a day, or samples measured for 4 days.

## 7. Conclusions

The purpose of this study was to develop an HPLC-MS/MS method for the adequate measurement of taurine, a compound that can have adverse health effects due to excessive consumption of energy drinks. The method was successfully validated not only for energy drinks, but also pills and effervescent tablets containing taurine. Within the framework of the validation, the linearity was tested, meeting the criterion of  $R^2 \geq 0.995$ , and limits of detection and quantification were also determined. Repeatability and reproducibility tests proved that, during the development of the method, results of replicate measurements were within the acceptable standard deviation range ( $\text{RSD}\% < 10\%$ ). Accuracy of the method was also acceptable, since the recovery calculated from standard addition was  $100 \pm 10\%$ , while accuracy of the testing of a certified reference material was 99%. Stability test showed that samples can be used within 3 days, irrespective of storage location, except for effervescent tablets where refrigerated storage is recommended. In summary, it can be stated that a routine method was developed with the following characteristics: simple sample preparation, low chemical demand, short run time, selective, accurate, robust and can be used not only for energy drinks, but also for pills and effervescent tablets containing taurine.

A kimutatási határ a pezsgőtablettára, tablettára és energiatálra pedig rendre 0,4 mg/100g, 0,3 mg/100g, 0,2 mg/100ml.

A meghatározási határ 0,4 mg/100g, 0,6 mg/100g, 0,4 mg/100ml a tablettára, pezsgőtablettára és energiatál esetében.

Az ismételtetés vizsgálatánál mindhárom minta esetében kisebb volt a szórás 5 relatív százaléknál.

A reprodukálhatóság vizsgálatok hasonló eredményeket kaptunk. Mind az egy napon végzett, mind a különböző napon végzett vizsgálatok, illetve a különböző analitikusok által végzett vizsgálatok esetében az RSD % < 10 %. Ennél a pontnál varianciaanalízist is elvégeztünk, amely megállapította, hogy nincs szignifikáns különbség az egyes napok és a különböző személyek mérési átlagértékei között 95%-os valószínűségi szinten.

A pontosság meghatározását két módszerrel is megállapítottuk. Egyrészt standard addícióval, ahol a visszanyerés minden mintánál  $100 \pm 10$  %-os volt. Másrészt referencia-anyagmintával, ahol 99%-os volt a pontosság. A stabilitás vizsgálatok adott koncentrációjú standard oldatot, illetve az előkészített mintaoldatokat szobahőfokon fénytől elzárt, fénynek kitett helyen, illetve hűtőszekrényben állni hagytuk. A megadott mérési körülmények között állandó időközönként; a nulladik napon óránként, majd minimum 3 napon keresztül meghatároztuk a taurintartalmat. A vizsgálatok azt mutatták, hogy a szórás minden esetben kisebb volt, mint 10 rel%, illetve, hogy a tablettára esetében az egy napon belül mért koncentrációk, illetve a 4 napon belül mért koncentrációk nem mutattak lényeges változást a tárolás helyétől függően.

A pezsgőtablettára esetében az egy napon belül mért koncentrációk nem mutattak csökkenő tendenciát, de a 3. napon mért, szekrényben tárolt minta koncentrációja az előzőektől kismértékben ugyan, de csökkent. A hűtőben tárolt minta taurin-koncentrációja nem változott, míg az asztalon tárolt minta taurin-tartalma lényegében elbomlott, így az ilyen típusú minta esetében ügyelni kell a megfelelő tárolási körülményre, amely 4-8 °C között a legmegfelelőbb. Az energiatál esetében tendenciális koncentrációváltozást sem az egy napon belül, sem a 4 napon keresztül mért mintákban nem lehetett a taurint kimutatni.

### 5. Következtetések

A túlzott energiatál fogyasztás miatt, sok esetben káros egészségügyi hatásokat kiváltó taurin megfelelő mérésének érdekében HPLC-MS/MS módszer kifejlesztése volt vizsgálatunk célja. A módszert sikeresen validáltuk nemcsak az energiatálokra, de taurint tartalmazó tablettára és pezsgőtablettára is. Ennek keretén belül elvégeztük a linearitásvizsgálatot, ahol az  $R^2 \geq 0.995$  teljesült, továbbá kimutatási és meghatározási határvizsgálatot is végeztünk. Az ismételtetés és reprodukálhatósági vizsgálatok igazolták, hogy a módszer előkészítése során a párhuzamos vizsgálatok eredményei megfelelő szóráson belül ingadoznak (RSD% < 10%). A módszer pontossága is elfogadható, hiszen a standard addícióból számolt visszanyerés  $100 \pm 10$  %, a referencia anyagminta-vizsgálatból kapott pontosság pedig 99%-os volt. A stabilitási vizsgálatok esetében látható volt, hogy

3 napon keresztül felhasználhatók az oldott minták a tárolás helyétől függetlenül, kivéve a pezsgőtablettára esetében, ahol a hűtve tárolás javasolt. Így összefoglalásként elmondható, hogy sikerült kidolgozni egy rutin módszert, amelynek: minta-előkészítése egyszerű, vegyszerigénye alacsony, futási ideje rövid, szelektív, pontos, robosztus és nemcsak energiatálra, hanem taurint tartalmazó tablettára és pezsgőtablettára is alkalmazható.

### 6. Irodalom/References

- [1] Heckman, M., Sherry, K., Mejia, D., & Gonzalez, E. (2010): Energy drinks: An assessment of their market size, consumer demographics, ingredient profile, functionality, and regulations in the United States. *Comprehensive Reviews in food science and food safety*, 9(3), 303-317.
- [2] Taranukhin, A. G., Saransaari, P., & Oja, S. S. (2013): Lethality of taurine and alcohol coadministration in mice. *Adv Exp Med Biol*, 776, 29-38.
- [3] Suliman, M. E., Barany, P., Filho, J. C., Lindholm, B., & Bergstrom, J. (2002): Accumulation of taurine in patients with renal failure. *Nephrol Dial Transplant*, 17(3), 528-529.
- [4] Mou, S., Ding, X., & Liu, Y. (2002): Separation methods for taurine analysis in biological samples. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 781(1-2), 251-267.
- [5] Catharino, R. R., Haddad, R., Godoy, H. T., Eberlin, M. N., & Santos, L. S. (2011): Fast Analysis of Taurine in Energetic Drinks by Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 22, 801-806.









## Nemzeti szabványosítási hírek

### 2014. év április-május hónapban bevezetett szabványok:

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

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

#### ICS 07.100.20 Víz mikrobiológiája

##### 13.060.70 Víz biológiai tulajdonságainak vizsgálata

MSZ EN ISO 17994:2014 Vízminőség. Követelmények mikroorganizmusok két mennyiségi módszerrel kapott relatív visszanyerésének összehasonlításához (ISO 17994:2014), amely visszavonta az MSZ EN ISO 17994:2004-et

#### ICS 13.060 Vízminőség

##### 13.060.45 Víz vizsgálata általában

##### 13.060.30 Szennyvíz

MSZ EN ISO 5667-13:2012 Vízminőség. Mintavétel. 13. rész: Útmutató az iszapok mintavételéhez (ISO 5667-13:2011) (magyar nyelven megjelent)

##### 13.060.70 Víz biológiai tulajdonságainak vizsgálata

MSZ EN 15910:2014 Vízminőség. Útmutató a halbőség becslésére mobil hidroakusztikus módszerekkel

#### ICS 67 Élelmiszeripar

##### 67.060 Gabonafélék, hüvelyesek és a belőlük származó termékek

MSZ EN ISO 2171:2010 Gabonafélék, hüvelyesek és melléktermékek. A hamu mennyiségének égetéses meghatározása (ISO 2171:2007) (magyar nyelven megjelent)

MSZ EN 15587:2008+A1:2014 Gabona és gabona-termékek. Az idegenanyag-tartalom meghatározása búzában (*Triticum aestivum* L.), durumbúzában (*Triticum durum* Desf.), rozsbán (*Secale cereale* L.) és takarmányárpában (*Hordeum vulgare* L.), amely visszavonta az MSZ EN 15587:2009-et

##### 67.100.10 Tej és feldolgozott tejtermékek

MSZ EN ISO 1211:2010 Tej. A zsírtartalom meghatározása. Gravimetriás módszer (referencia-módszer) (ISO 1211:2010) (magyar nyelven megjelent)

MSZ EN ISO 5764:2009 Tej. A fagyáspont meghatározása. Termisztoros kriozkópos módszer (referencia-módszer) (ISO 5764:2009) (magyar nyelven megjelent)

MSZ EN ISO 8968-1:2014 Tej és tejtermékek. A nitrógentartalom meghatározása. 1. rész: Kjeldahl-mód-

szer és a nyersfehérje kiszámítása (ISO 8968-1:2014), amely visszavonta az MSZ EN ISO 8968-1:2002-et és az MSZ EN ISO 8968-2:2002-et

##### 67.100.30 Sajt

MSZ EN ISO 5534:2004 Sajtok és ömlesztett sajtok. A szárazanyag-tartalom meghatározása (referencia-módszer) (ISO 5534:2004) (magyar nyelven megjelent)

MSZ EN ISO 5943:2007 Sajtok és ömlesztett sajtok. A kloridtartalom meghatározása. Potenciometriás titrálásos módszer (ISO 5943:2006) (magyar nyelven megjelent)

##### 67.200.10 Állati és növényi zsírok és olajok

MSZ EN ISO 660:2009 Állati és növényi zsírok és olajok. A savszám és a savasság meghatározása (ISO 660:2009) (magyar nyelven megjelent)

MSZ EN ISO 663:2009 Állati és növényi zsírok és olajok. Az oldhatatlan szennyezőanyag-tartalom meghatározása (ISO 663:2007) (magyar nyelven megjelent)

MSZ EN ISO 3960:2010 Állati és növényi zsírok és olajok. A peroxidszám meghatározása. Jodometriás (vizuális) végpont-meghatározás (ISO 3960:2007, 2009-05-15-i helyesbített változat) (magyar nyelven megjelent)

MSZ EN ISO 15303:2009 Állati és növényi zsírok és olajok. Az illékony szerves szennyező anyagok kimutatása és azonosítása GC/MS-sel (ISO 15303:2001) (magyar nyelven megjelent)

##### 67.240 Érzékszervi vizsgálat

MSZ ISO 11037:2014 Érzékszervi vizsgálat. Irányelvek a termékek színének érzékszervi bírálatára (magyar nyelven megjelent)

### 2014. év április-május hónapban helyesbített szabvány:

67.240; 01.040.67

MSZ EN ISO 5492:2009 Érzékszervi vizsgálatok. Szakszótár (ISO 5492:2008)

### 2014. év április-május hónapban visszavont szabványok:

67.120.30

MSZ EN 14524:2005 Élelmiszerek. Az okadasav meghatározása kagylókban. HPLC-módszer szilárd fázisú extrakcióval végzett tisztítással, származék-képzéssel és fluorometriás kimutatással

67.220.10

MSZ 9681-1:2002 A fűszerpaprika-őrlemény vizsgálata. 1. rész: Az őrlési finomság meghatározása

MSZ 9681-6:2002 A fűszerpaprika-őrlemény vizsgálata. 6. rész: Az összes növényiolaj-tartalom meghatározása

<sup>1</sup> Magyar Szabványügyi Testület (MSZT)

## Review of national standardization

### Implemented national standards from April to May, 2014

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

#### ICS 07.100.20 Microbiology of water

##### 13.060.70 Examination of biological properties of water

MSZ EN ISO 17994:2014 Water quality. Requirements for the comparison of the relative recovery of microorganisms by two quantitative methods (ISO 17994:2014), which has withdrawn the MSZ EN ISO 17994:2004

#### ICS 13.060 Water quality

##### 13.060.45 Examination of water in general

##### 13.060.30 Sewage water

MSZ EN ISO 5667-13:2012 Water quality. Sampling. Part 13: Guidance on sampling of sludges (ISO 5667-13:2011) (published in Hungarian)

##### 13.060.70 Examination of biological properties of water

MSZ EN 15910:2014 Water quality. Guidance on the estimation of fish abundance with mobile hydroacoustic methods

#### ICS 67 Food technology

##### 67.060 Cereals, pulses and derived products

MSZ EN ISO 2171:2010 Cereals, pulses and by-products. Determination of ash yield by incineration (ISO 2171:2007) (published in Hungarian)

MSZ EN 15587:2008+A1:2014 Cereals and cereal products. Determination of Besatz in wheat (*Triticum aestivum* L.), durum wheat (*Triticum durum* Desf.), rye (*Secale cereale* L.) and feed barley (*Hordeum vulgare* L.) which has withdrawn the MSZ EN 15587:2009

##### 67.100.10 Milk and processed milk products

MSZ EN ISO 1211:2010 Milk. Determination of fat content. Gravimetric method (Reference method) (ISO 1211:2010) (published in Hungarian)

MSZ EN ISO 5764:2009 Milk. Determination of freezing point. Thermistor cryoscope method (Reference method) (ISO 5764:2009) (published in Hungarian)

MSZ EN ISO 8968-1:2014 Milk and milk products. Determination of nitrogen content. Part 1: Kjeldahl principle and crude protein calculation (ISO 8968-1:2014) which has withdrawn the MSZ EN ISO 8968-

1:2002 and the MSZ EN ISO 8968-2:2002

##### 67.100.30 Cheese

MSZ EN ISO 5534:2004 Cheese and processed cheese. Determination of the total solids content (Reference method) (ISO 5534:2004) (published in Hungarian)

MSZ EN ISO 5943:2007 Cheese and processed cheese products. Determination of chloride content. Potentiometric titration method (ISO 5943:2006) (published in Hungarian)

##### 67.200.10 Animal and vegetable fats and oils

MSZ EN ISO 660:2009 Animal and vegetable fats and oils. Determination of acid value and acidity (ISO 660:2009) (published in Hungarian)

MSZ EN ISO 663:2009 Animal and vegetable fats and oils. Determination of insoluble impurities content (ISO 663:2007) (published in Hungarian)

MSZ EN ISO 3960:2010 Animal and vegetable fats and oils. Determination of peroxide value. Iodometric (visual) endpoint determination (ISO 3960:2007, corrected version 2009-05-15) (published in Hungarian)

MSZ EN ISO 15303:2009 Animal and vegetable fats and oils. Detection and identification of a volatile organic contaminant by GC/MS (ISO 15303:2001) (published in Hungarian)

##### 67.240 Sensory analysis

MSZ ISO 11037:2014 Sensory analysis. Guidelines for sensory assessment of the colour of products (published in Hungarian)

### Corrected national standard from April to May, 2014

##### 67.240; 01.040.67

MSZ EN ISO 5492:2009 Sensory analysis. Vocabulary (ISO 5492:2008)

### Withdrawn national standards from April to May, 2014

##### 67.120.30

MSZ EN 14524:2005 Foodstuffs. Determination of okadaic acid in mussels. HPLC method with solid phase extraction clean-up, derivatization and fluorometric detection

##### 67.220.10

MSZ 9681-1:2002 Test method for ground paprika as spice. Part 1: Determination of degree of fineness  
MSZ 9681-6:2002 Test method for ground paprika as spice. Part 6: Determination of vegetable oil content

Additional information: Mrs Csilla Kurucz, standardization manager, e-mail: [cs.kurucz@mszt.hu](mailto:cs.kurucz@mszt.hu)

<sup>1</sup> Hungarian Standards Institution



## Egyesült Államok - Az élelmiszer csomagolásokon található, tápanyag-tartalmakat megjelenítő címkék aktualizálása javasolt

Values	100ml contains	250ml contains
Energy	199kJ	500kJ
	47kcal	120kcal
Protein	0.5g	1.3g
Carbohydrate	10.5g	26.3g
of which sugars	10.5g	26.3g
Fat	trace	trace
of which saturates	trace	trace
Fibre	trace	trace
Sodium	trace	trace

Február 27-én az amerikai Élelmiszer- és Gyógyszerhatóság (FDA) javasolta az élelmiszer csomagolásokon található, tápanyag-tartalmakat megjelenítő címkék aktualizálását, hogy azok tükrözzék a legfrissebb tudományos információkat, beleértve az étrend és a krónikus betegségek, mint például az elhízás és a szívbetegségek közötti kapcsolatot. Ezen kívül a javasolt címke lecserélné az elavult adatokat, hogy azok jobban összhangban legyenek azáltal, amennyit az emberek valójában esznek, valamint a dizájn is megújítanak, hogy az kiemelve a címke lényegi részeit, mint például a kalóriamennyiségeket és az adatokat.

## United States - Updates to Nutrition Facts Label on Food Packages Proposed

The US Food and Drug Administration (FDA) proposed February 27 to update the Nutrition Facts Label for packaged foods to reflect the latest scientific information, including the link between diet and chronic diseases such as obesity and heart disease. The proposed label also would replace out-of-date serving sizes to better align with how much people really eat, and it would feature a fresh design to highlight key parts of the label such as calories and serving sizes.

## Az USA és Kanada egységesíti a húsfélék neveit

Február 24-én Kanada és az USA megegyezett a nagykereskedelmi húsfélék neveinek egységesítéséről. Reményeik szerint a közös nyelv használatára lesz az ágazatnak a külön raktárkészletek fenntartása költségeinek csökkentésén, a kereskedelmet akadályozó bürokrácia visszaszorításán és a szabályozási terhek könnyítésén keresztül.

## US and Canada Harmonizing Meat Cut Names

Canada and the United States agreed February 24 to harmonize their terminology used for wholesale cuts of meat. This common understanding of terms is intended to benefit industry through reducing costs of maintaining separate inventories, easing trade reducing red tape and regulatory burden.

## Kanada - Új nemzeti jégbor-szabvány



Kiterjedt konzultációt követően a kanadai kormány új szabályozást vezet be, amely segítségére lesz a kanadai jégbortermelőknek az exportpiacok bővítésében, és megvédi a fogyasztókat a hamis termékektől. A módosítások elsődleges célja egy új nemzeti jégborszabvány létrehozása, de emellett az új szabályozás megváltoztatja, hogyan jelenik meg az információ a borospalackokon, és kisebb változtatásokat eszközöl az élelmiszer- és gyógyszer-szabályozás szövegében, valamint a fogyasztói csomagolás és címkézés előírásaiban is. Dollárérték tekintetében a borok közül a jégbor Kanada fő exportcikke. Kanada borexportból származó bevételének 45 százalékát teszi ki, míg mennyisége csupán a teljes exportált mennyiség 1,2 százaléka.

## Canada - New National Standard for Icewine

After extensive consultation, the Government of Canada is introducing regulatory amendments that will help Canadian icewine producers expand export markets and protect consumers from fraudulent products. Primarily, the amendments will create a new national standard for icewine. The amendments also change the way information is displayed on wine containers, and includes minor text amendments to the Food and Drug Regulations and to the Consumer Packaging and Labelling Regulation. Icewine is Canada's main wine

export in terms of dollar value. It provides 45 per cent of Canada's wine export revenue while only consisting of 1.2 per cent of Canada's wine export volume.

## Étrend-kiegészítők egységesítése az ASEAN országokban

Március 5-én az ASEAN Étrend-kiegészítő Társaságok Szövetsége (AAHSA) és az Étrend-kiegészítő Társaságok Nemzetközi Szövetsége (IADSA) közösen kiadták az ASEAN TMHS (hagyományos gyógy módok és étrend-kiegészítők) Mutatószámrendszerét, az első, egy iparág által kifejlesztett rendszert a térségben. Ez a mutatószámrendszer a szektorban folyó szabványharmonizáció stratégiai értékelését adja, különös tekintettel az étrend-kiegészítőkre.

## Health Supplement Harmonisation in ASEAN

The ASEAN Alliance of Health Supplement Associations (AAHSA) and the International Alliance of Dietary /Food Supplement Association (IADSA) jointly issued an ASEAN TMHS (Traditional Medicines and Health Supplements) Scorecard 5 March, the first of its kind developed by an industry in the region. The Scorecard provides a strategic assessment of the ongoing standards harmonisations in the sector with special focus on health supplements.



## Kanada - Új szabályok a sertéságazatban

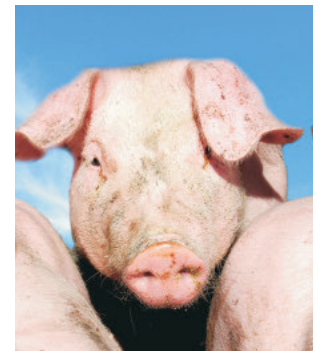
Az iparral történt kiterjedt konzultáció után február 26-án a kanadai kormány bejelentette, hogy „tovább erősítik az állattenyésztési ágazatot Kanadában” egy kötelező nemzeti sertés-nyomonkövetési rendszeren keresztül, amely tovább segíti az állatok követését a gazdaságoktól a vágóhídig. Az Állategészségügyi Szabályozás ehhez kapcsolódó módosítási

a Kanadai Közlöny III. részében jelentek meg. A szabályozás 2014. július 1-jén lép életbe, és azokra a hazai sertések vonatkozik, amelyeket élelmiszer-előállítási céllal tartanak, beleértve azokat is, melyek a gazdaságokban pusztulnak el, és nem kerülhetnek be az élelmiszerláncba.

## Canada - New rules for pig industry

After extensive industry consultation, the Canadian Government issued February 26 that it is „further strengthening Canada's livestock sector” by enhancing its capacity to track animals from farm to slaughter through a mandatory national pig traceability system. The related amendments to the Health of Animals Regulations have been published in Canada Gazette, Part III. The regulations come into force on July 1, 2014 for all domestic pigs that are farmed for food production, including those that die on farm and cannot enter the food chain.

## EU - Az EFSA értékeli az afrikai sertéspestis terjedésének megelőzésére szolgáló intézkedéseket



Január végén Lengyelország és Litvánia is bejelentette, hogy afrikai sertéspestist észleltek vaddisznóknál. Az afrikai sertéspestis egy vírusos betegség, amely erre veszélytelen, de a sertések és vaddisznók számára halálos. Jelenleg nem létezik rá gyógymód, és nincsen ellene vakcina. Az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság (EFSA) az Európai Bizottság sürgős kérésére értékeli azoknak az intézkedéseknek a hatékonyságát, amelyek célja a vírus terjedésének csökkentése a vaddisznók körében.

## EU- EFSA Assesses Measures to Prevent African Swine Fever Spread

At the end of January Poland and Lithuania reported cases of African swine fever in wild boars. African swine fever is a viral disease that is harmless to humans but deadly to pigs

and wild boars. Currently there is no cure and no vaccine. The European Food Safety authority (EFSA) is evaluating the effectiveness of control measures to reduce the spread of the virus among wild boars, following an urgent request from the European Commission.

### Európai Unió - B3-vitaminra (niacin) vonatkozó Étrendi Referencia Értékek

Február 14-én az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság (EFSA) nyilvános konzultációt indított az általa javasolt, niacinra vonatkozó Étrendi Referencia Értékekről (DRV). A Tudományos Vélemény tervezete DRV-ket javasol felnőttek, csecsemők, gyermekek, valamint terhes és szoptató nők számára. Az érdekelt felek 2014. március 28-áig nyújthatják be írásos észrevételeiket.

### European Union - Dietary Reference Values for Niacin

The European Food Safety Authority (EFSA) launched an open consultation on its proposed dietary reference values (DRVs) for niacin on February 14. The draft Scientific Opinion proposes DRVs for niacin for adults, infants and children, and pregnant and lactating women. Interested parties are invited to submit written comments by 28 March 2014.

### Németország: Az energialevek veszélye

Az ún. energialevek olyan koffeintartalmú italok, amelyek rendszerint taurint, inozidot és glükuronolaktont tartalmaznak, gyakran magas koncentrációkban. Alapvető szabály, hogy szív- és érrendszeri betegségekben szenvedő emberek, gyermekek és terhes nők kerüljék az energialeveket. Ezen kívül nemkívánatos egészségügyi hatások léphetnek fel, amennyiben az energialeveket megerőltető fizikai tevékenység közben vagy alkoholtartalmú italokkal együtt fogyasztjuk. Ezek a kockázatok különösen jelentősek olyan egyének esetében, akik érzékenyek a koffeinre, és a csomagoláson található figyelmeztetéseket sokszor nem veszik figyelembe. Ez volt a következtetése a Német Szövetségi Kockázatbecslési Intézet (BfR) Nagy energialeveket fogyasztók eseményhez kötött felmérése című tanulmányának.

A felmérés azt is kimutatta, hogy magas lehet az energialeveket fogyasztás sportesemények alkalmával is, akár több mint 1 liter 24 óra alatt. Egyes esetek

ben több mint 3 litert ittak meg, bár nem alkohollal keverve.

(A taurin vizsgálatával kapcsolatban, kérjük, olvassa el a 190. oldalon található cikkünket!)

### Germany: Risk from energy drinks



So-called energy drinks are beverages that contain caffeine, usually mixed with the substances taurine, inositol and glucuronolactone, often in high concentrations. As a basic rule, people with cardiovascular disorders, children and pregnant women should avoid energy drinks. In addition to this, undesired health effects may occur if energy drinks are consumed while involved in strenuous physical activities or when taken together with alcoholic beverages. These risks are particularly considerable for individuals who are sensitive to caffeine, and the manufacturers notes on the packaging are often not heeded. This was the conclusion of the study Event-Related Survey of High Consumers of Energy Drinks conducted by the German Federal Institute for Risk Assessment (BfR).

The survey also showed that high amounts of energy drinks may be consumed at sports events by an average of more than 1 litre within 24-hour period. In some cases more than 3 litres were drunk, but not mixed with alcohol.

(About the analysis of taurine, please read the article started on page 190.)

### Egyesült Királyság - Vélemények kerestetnek az algaolajról

Az új élelmiszerekről szóló 258/97/EK rendelet szerint a DSM Nutritional Products nevű vállalat bejelentette szándékát az Élelmiszerszabvány-ügyi Hatóságnál (Food Standards Agency, FSA) algaolaj forgalomba hozatalára. Az FSA jelenleg véleményekre vár saját Különleges Élelmiszerekkel és Eljárásokkal foglalkozó Függelék

len Tanácsadó Bizottságának jelentéstervezetével kapcsolatban. Ezt az olajat, amely gazdag az omega-3 zsírsavakban (dokozahexaénsavban (DHA), egy újonnan izolált mikroalga törzsből vonják ki. A szóban forgó vállalat elsődleges felhasználásként csecsemő-tápszerek DHA-forrásaként való alkalmazását javasolja.

### United Kingdom - Views Wanted on Algal Oil

A company has applied to the Food Standards Agency (FSA) to market an algal oil under Novel Food Regulation (EC) No. 258/97, and the FSA subsequently sought views on the draft opinion of the FSA's independent Advisory Committee on Novel Foods and Processes. This oil, which is rich in the omega-3 fatty acid docosahexaenoic acid (DHA), is extracted from newly isolated strain of the microalgae, and the company, DSM Nutritional Products, proposes to use the oil primary as a source of DHA in infant follow-on formula.

### Finnország: Új módszer a D3-vitamin meghatározására tejből



Február 27-én a finn Élelmiszerbiztonsági Hatóság, az Evira bejelentette, hogy kidolgoztak egy új módszert a D3-vitamin meghatározására tejből. Az új módszerről, amelyet be fognak vezetni az Evira analitikai folyamatába, azt állítják, hogy egyszerűsíti a minta-előkészítést.

Az Evira a D3-vitamin meghatározását tejből, tejtermékekből, halból és takarmányokból végzi. Jelenleg folyadékromatográfiás (LC) módszert alkalmaznak ultrabolya (UV) detektálással. Ez bonyolult minta-előkészítéssel jár, amelynek eredményeképpen az analízis 4-5 napig tart. Az új módszer azonban LC-MS/MS technikán alapul, amely egyszerű minta-előkészítést tesz lehetővé.

Mivel a finnek D-vitamin bevitelére az őket ért kevés napfény miatt alacsony, Finnországban a tejtermékekhez D-vitamint adnak. A tejtermékeket D3-vitaminnal dúsítják, amely a D-vitamin állatokban előforduló formája. Emiatt kifejezetten a D3-vitamin meghatározására alkalmas analitikai módszere volt szükség. Ezen kívül tesztelték a módszer alkalmasságát takarmányminták vizsgálatára. Validálást hajtottak végre, hogy meggyőződjenek arról, hogy a módszer megbízható, és hogy meghatározzák a mérési bizonytalanságot.

### Finland: A new method for determination of vitamin D3 in milk

The Finnish Food Safety Authority, Evira, said 27 February that it has developed a new method for the determination of vitamin D3 in milk. The new method, which will be introduced to Evira's analysis process, is said to simplify sample preparation.

Evira conducts analyses of vitamin D in milk and dairy products, fish and animal feed. The current method used is liquid chromatography (LC) with ultraviolet (UV) detection. This involves complicated sample preparation, as a result of which analysis takes 4-5 days. The new method, on the other hand, is based on an LC-MS/MS technique that enables simple sample preparation.

As Finnish have a low vitamin D intake due to limited sun exposure, vitamin D is added to dairy products in Finland. Dairy products are fortified with vitamin D3 which is the form of vitamin D found in animals. For this reason, an analysis method was required specifically for vitamin D3. In addition, the method is tested for its applicability for analysing feed samples. Validation is carried out to ensure that results obtained using the method are reliable and the measurement uncertainty involved is known.

### A fenti összefoglalók a World Food Regulation Review c. újságból származnak.

The summary of the articles were taken from the World Food Regulation Review.



**Szerzőink/Authors:**

**Prof. Dr. Ambrus Árpád**, egyetemi tanár, nyugalmazott igazgató-helyettes, Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal Élelmiszerbiztonsági Kockázatértékelési Igazgatóság (H-1143 Budapest, Tábormok u. 2.). Növényvédő szerek analitikája, élelmiszerbiztonság, mintavétel statisztikája.

**Andrási Dávid**, PhD hallgató, intézeti mérnök, Debreceni Egyetem, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar, Élelmiszertudományi, Minőségbiztosítási és Mikrobiológiai Intézet (H-4032 Debrecen, Böszörményi út 138.). Élelmiszer analitika.

**Dr. Brumbauer Anikó**, laboratóriumi fejlesztési csoportvezető, Fővárosi Vízművek Zrt. Vízminőségi és Környezetvédelmi Osztály (Budapest IV. Váci út 102.) Ivóvízvizsgálat.

**Dr. Csik Gabriella** főosztályvezető-helyettes, Magyar Szabványügyi Testület (H-1082 Budapest, Horváth M. tér 1.)

**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.

**Farkas Zsuzsanna**, PhD hallgató, kockázatértékelési mérnök, Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal Élelmiszerbiztonsági Kockázatértékelési Igazgatóság (H-1143 Budapest, Tábormok u. 2.). Élelmiszerbiztonság, kockázatértékelés.

**Horváth Zsuzsanna**, PhD hallgató kockázatértékelési mérnök, Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal Élelmiszerbiztonsági Kockázatértékelési Igazgatóság (H-1143 Budapest, Tábormok u. 2.). Élelmiszerbiztonság, kockázatértékelés.

**Iglóváriné Molnár Mária**, laborvezető, Országos Élelmelés- és Táplálkozástudományi Intézet Élelmiszerkémiai-Analitikai Főosztály (H-1097 Albert Flórián u 3/a). Étrendkiegészítők vizsgálata.

**Prof. Dr. Kovács Béla**, intézetigazgató egyetemi tanár, Debreceni Egyetem, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar, Élelmiszertudományi, Minőségbiztosítási és Mikrobiológiai Intézet (4032 Debrecen, Böszörményi út 138.). Élelmiszer analitika, elemanalitika (ICP-OES, ICP-MS).

**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.

**Dr. Mihucz Viktor**, egyetemi adjunktus, ELTE, Kémiai Intézet, Környezetkémiai és Bioanalitikai Laboratórium (H-1117 Budapest, Pázmány Péter sétány 1/A). Elemanalitika, élelmiszervizsgálatok (ICP-OES, ICP-MS), Környezetvédelmi kutatás.

**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.

**Párkány-Simon Beatrix**, mikrobiológiai és mintavételi részlegvezető, Fővárosi Vízművek Zrt. Vízminőségi és Környezetvédelmi Osztály (Budapest IV. Váci út 102.) Ivóvízvizsgálat.

**Schreiberné Molnár Erzsébet**, főigazgató, Országos Élelmelés- és Táplálkozástudományi Intézet Élelmiszerkémiai-Analitikai Főosztály (H-1097 Albert Flórián u. 3/a). Étrendkiegészítők vizsgálata.

**Soós Áron**, PhD hallgató, intézeti mérnök, Debreceni Egyetem, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar, Élelmiszertudományi, Minőségbiztosítási és Mikrobiológiai Intézet (H-4032 Debrecen, Böszörményi út 138.). Élelmiszer analitika.

**Sugár Éva**, PhD hallgató, természettudományi szakreferens, Magyar Tudományos Akadémia Titkársága, Kutatóintézeti Főosztály (H-1051 Budapest, Nádor utca 7.). Elemanalitika, élelmiszervizsgálatok (ICP-OES, ICP-MS), tudománysszervezés.

**Szilvassy Blanka**, laboratóriumi mérnök, Országos Élelmelés- és Táplálkozástudományi Intézet Élelmiszerkémiai-Analitikai Főosztály (H-1097 Albert Flórián u 3/a). Étrendkiegészítők vizsgálata.

**Prof. Dr. Záray Gyula**, egyetemi tanár, ELTE, Kémiai Intézet, Környezetkémiai és Bioanalitikai Laboratórium (H-1117 Budapest, Pázmány Péter sétány 1/A). Elemanalitika, élelmiszervizsgálatok (ICP-OES, ICP-MS), Környezetvédelmi kutatás.

**Kiadó/Publisher:** WESSLING Nemzetközi Kutató és Oktató Központ Közhasznú Nonprofit Kft. / Wessling International Research and Educational Beneficial Nonprofit Ltd.

**Felelős kiadó/Director:** Dr. Zánthy László ügyvezető igazgató / CEO

**Főszerkesztő/Editor in chief:** Dr. Szigeti Tamás János

**Szerkesztő/Editor:** Szunyogh Gábor

**Angol nyelvű szakfordítás/English translation:** Dr. Hantosi Zsolt

**Jogi kérdések/Legal topics:** Dr. Martin Andrea

**Szerkesztőbizottság/Editorial Board:** Ambrus Árpád Dr. (ny. egy. tanár, NÉBIH főtanácsadó) • 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 prof. Dr. (egy. tanár, Kaposvári Egyetem) • Farkas József Dr. (ny. egy. tanár, akadémikus) • Gimes Ernő Dr. (egy. docens, Szegedi Egyetem Mérnöki Kar) • Gyaraky Zoltán (VM 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, c. 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. (igh., 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) • Weßling, Diana (Representative family business, Wessling Holding GmbH & Co. KG, Altenberge, Germany) • Zánthy László Dr. (felelős kiadó, ügyvezető ig., Wessling Közhasznú Nonprofit Kft.)

**Elérhetőségeink:** Cím: 1047. Budapest, Fóti út 56.; Telefon: +36 1 872-36-00, +36 1 872 36 21; Fax: +36 1 435 01 00; E-mail: eviko@wirec.eu; Weboldal : www.eviko.hu

**Előfizetés, hirdetés/subscription, advertising:** Bácsy Rita, Tel. +36 1 872-3633, E-mail: eviko@wirec.eu

**Nyomdai előkészítés/layout, dtp:** Adworks Kft., E-mail: info@adworks.hu

Előfizetési díj egy évre: bruttó 4000 Ft. Digitális előfizetés: bruttó 3600 Ft. / Subscription for one year: 14€. Digital subscription for one year: 12€.

A lap 1000 példányban jelenik meg, negyedévente.

Minden jog fenntartva!

A felirattal nem rendelkező képek illusztrációk. / The pictures without title are illustrations.

A kiadó írásbeli hozzájárulása nélkül tilos a kiadvány bármilyen eljárással történő sokszorosítása, másolása, illetve az így előállított másolások terjesztése.

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.



n é b i h  
Termőföldtől az asztalig





# Következő (LX. évfolyam 3.) számunk témáiból:

## Glifozát maradékainak meghatározása élelmiszerekből

A fűszerpaprika jogszabályvizsgálata

Hat Szigma az élelmiszertermelésben – a biológiai folyamatok optimalizálásának kihívásai

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

A biológiai kontrol alkalmazási lehetőségei élelmiszereredetű patogén baktériumok gátlására

Alakfelismerési kutatások néhány eredménye érzékszervi élelmiszerminősítő módszerek továbbfejlesztéséhez sütőipari termékekre

Nemzetközi és hazai zöldség-gyümölcs fogyasztás, módszertani kérdések

Búza szemkeménységének meghatározása magmérő eljárásokkal

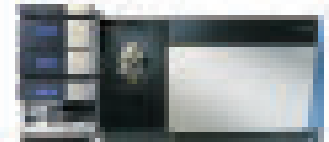


# Tömegspektrometria emelt szinten.

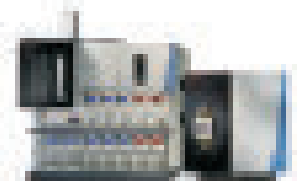
A Thermo Scientific™ egyedülálló technológiákat alkalmazó új tömegspektrométerek – az Orbitrap Fusion™ Tribrid™ HR-AM MS, valamint a TSQ Endura™ és TSQ Quantiva™ három kvadrupól MS-ek – kompromisszumok nélküli teljesítményt és hozzáférhetőséget kínálnak az igényes rutin analitikától a legmagasabb szintű kutatásig. Ezek a berendezések a Thermo Scientific nano-ESI, UPLC és akár multiplexelt online SPLC rendszerével együtt a mérésben elérhető információmennyiségben, a kimutatási határértékben és a mérési hatékonyságban is a tömegspektrometria legújabb szintjét képviselik.

## Miért lenne a kevesebb is elég?

[thermoscientific.com/massspectrometry](http://thermoscientific.com/massspectrometry)



**Thermo PowerLab™  
MS  
Környezeti mérés**



**TSQ Quantiva™  
Kutatás**



**TSQ Endura™  
Kutatás**



**Orbitrap Fusion™  
Kutatás**

Középszeri irodákat:

UNICAM Magyarország Kft., 1144 Budapest, Közigazgató utca 27.

Teléfono: +36 1 221 5538 • Fax: +36 1 221 5543

E-mail: [unicam@unicam.hu](mailto:unicam@unicam.hu) • Web: [www.unicam.hu](http://www.unicam.hu)

20 éves

**UNICAM**

Magyarország Kft.