

# Élelmiszerek nitráttartalmának meghatározása különbéle módszerekkel

*Varga Béláné, Sebestyén Róbert és Nagyné Tukovics Éva*

Megyei Állategészségügyi és Élelmiszer Ellenőrző Állomás, Győr

Érkezett: 1994. június 20.

Élelmiszereink anorganikus nitráttartalma alapvetően kétféle forrásból származhat, úgymint:

- a "természetes" nitráttartalom, amely elsősorban az anyagcsere-folyamatok révén halmozódhat fel, főleg a különböző zöldségfélékben [1-4];
- az élelmiszerek előállítása során alkalmazott technológiai adalék- és segédanyagok "maradék" (pl. a hosszú érlelési idejű húskészítmények színének kialakításához használt pácsó, vagy a sajtgyártásnál a fermentáció megelőzésére a tejhez adagolt nitrátsó) [5, 6].

Az élelmiszerek nitráttartalma – bizonyos mennyiség felett – veszélyt jelent az emberi egészségre, különösen a csecsemők és a kiskorú gyermekek egészségére. A nitrátok élelmezés-egészségügyi és toxikológiai megítéléséről Saint-Blanquat közölt áttekintést [7], de az általuk okozott ártalmak kérdéskörével részletesen foglalkozik az élelmezéshigiéna (illetve a közegészség-tan) [8-13], továbbá a humán orvosi [14-17] és az állatorvosi toxikológia [18-22] szakirodalma is.

Bár hatósági határértéket csak az ivóvíz [10-12] és a bébiételek [23] nitráttartalmára állapítottak meg, a fogyasztók egészségvédelme érdekében az élelmiszer-minőségellenőrzésnek fel kell(ett) vállalnia az élelmiszerek nitráttartalmának (lehetőleg) rendszeres vizsgálatát.

Az élelmiszerek nitrát- és nitrittartalmának meghatározása túlnyomórészt a nitritionok színes származékainak spektrofotometriás mérésével történik. A nitrátionokat ilyenkor természetesen – előzetesen – nitritté kell redukálni. Legelterjedtebb színeképző reagens a szulfanilsav és az 1-naftilamin [24-28], az egyes módszerek a nitritté redukálás módjában különböznek egymástól. Ezek közé tartozik a munkatársaink által korábban kidolgozott, úgynevezett módosított Rebelein eljárás is, amelynek során a redukciót kadmium-szulfát oldattal végezzük [29].

Az analitikai módszerek fejlődésével párhuzamosan egyre nagyobb teret hódít az enzimes analízis alkalmazása, többek között az élelmiszer-

analitika területén is [25, 30-33]. A Boehringer Mannheim GmbH a legfontosabb jellemzők meghatározására teszt-kombinációkat fejlesztett ki, amelyek kifejezetten élelmiszerekre lettek "megfogalmazva". Az enzimes analitikai eljárások legfontosabb előnyei a következők:

- nagy specifikusság,
- nagy érzékenység,
- egyszerű mintaelőkészítés,
- 1-5 % közötti variációs együtthatók,
- kevés zavaró hatás,
- kis időigény,
- automatizálhatóság,
- alacsony elemzési költség,
- egészségre ártalmatlan reagensek.

Mint hogy ma már a nitráttartalom meghatározására is kapható enzimes teszt-kombináció, lehetőségünk adódott arra, hogy összehasonlítsuk a laboratóriumban használt "klasszikus" módszerek, illetve az enzimes analitikai eljárás által szolgáltatott eredményeket. Célunk az volt, hogy - az eredmények ismeretében - kiválasszuk azt a módszert, amely gyors és pontos eredményeket ad, ugyanakkor könnyen kivitelezhető.

## **Anyagok és módszerek**

A vizsgálatra került mintákat a gyorsfagyasztott zöldségfélék köréből válogattuk úgy, hogy köztük egyaránt szerepeljenek alacsony, valamint magas - 1000 mg/kg feletti - értékek.

Ismeretes, hogy a zöldségfélék nitráttartalmát számos tényező befolyásolja, többek között:

- a növény faja,
- a talaj nitrogén-ellátottsága (műtrágyázás !),
- a növény vegetációs (érettségi) állapota,
- a termesztés körülményei (szabadszíves, üvegházi, "fóliás"),
- az időjárás (csapadék- és fényviszonyok),
- a betakarítás időpontja (napszak) [4, 13].

Az összehasonlító vizsgálatba az alábbi három módszert vontuk be:

### **1. Szabványos módszer MSZ 3615-80, ill. MSZ 6905-81 szerint**

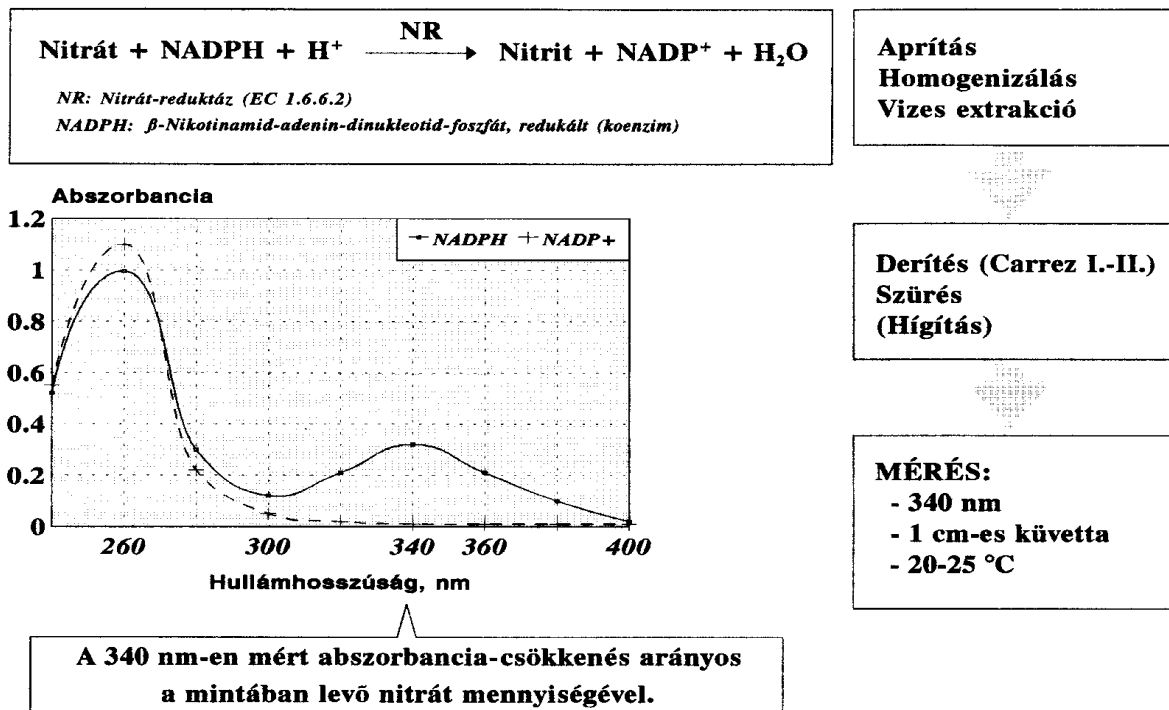
Elve: a vizsgálandó minta vizes kivonatában levő nitrátionokat fém kadmiummal nitritté redukáljuk. A keletkezett nitritionok szulfanilsav és 1-naftilamin reagenssel vörös színű azofestéket képeznek, amely 525 nm hullámhosszúságon fotometrálnak [25, 34, 35].

## 2. Módosított Rebelein módszer

A nitrátionok redukálását kadmium-szulfát oldattal végezzük; a keletkezett nitritionok fotometriás meghatározása a fentiek szerint történik [29]. (A módszer "eredetijének" leírását Rebelein közleményében [36] olvashatjuk.)

## 3. Enzimes meghatározás Boehringer No. 905658 teszttel

A mérési eljárás elvét és folyamatát az 1. ábrán mutatjuk be [37-39].



1. ábra: Az enzimes meghatározás elve

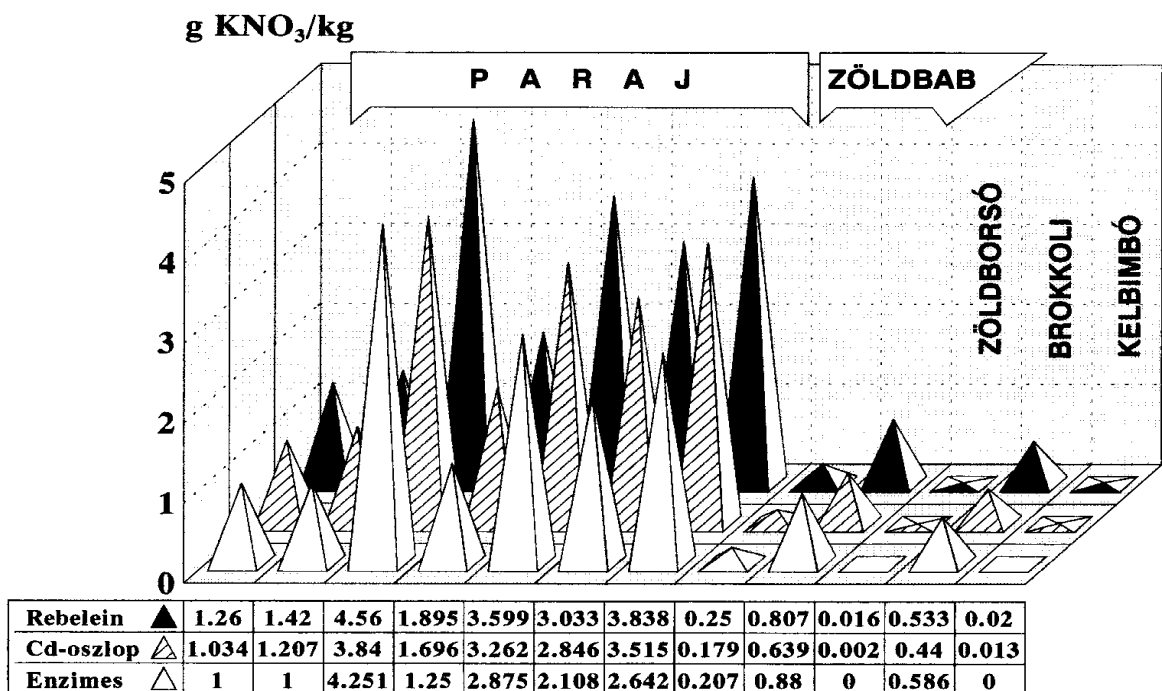
Valamennyi mintából módszerenként 3-3 párhuzamos meghatározást végeztünk. A spektrofotometriás mérésekhez VSU 2-P (Carl Zeiss Jena) típusú készüléket használtunk.

## Vizsgálati eredmények

A módszerenkénti és mintánkénti nitráttartalom átlagokat a 2. ábrán szemléltetjük.

## Az eredmények értékelése

Eredményeink statisztikai értékelését a STATGRAPHICS programcsomag (PLUS Q WARE) segítségével végeztük [40, 41]; a számítások fontosabb eredményeit az 1. táblázat tartalmazza.



2. ábra: Gyorsfagyasztott zöldségfélék nitráttartalma

### 1. táblázat: Statisztikai értékelés

*EGYSZEMPONTOS  
VARIANCIA-  
ANALÍZIS*

MÓDSZER	ÁTLAG	KONFIDENCIA INT. (P = 0.95)	
ENZIMES	1400.06	930.65	1869.46
Cd-OSZLOP	1553.33	1083.93	2022.73
REBELEIN	1769.31	1299.90	2238.71
Számított F-érték: 0.614		Szignifikanciaszint: 0.5429	

*PÁRONKÉNTI  
REGRESSZIÓS  
ANALÍZIS*

	Y X	ENZIMES Cd-OSZLOP	REBELEIN Cd-OSZLOP	ENZIMES REBELEIN
TENGELYMETSZET		59.20	70.26	- 10.94
SZÁMÍTOTT t-ÉRTÉK		0.5946	1.1006	-0.1479
SZIGNIFIKANCIASZINT		0.5559	0.2787	0.8832
MEREDEKSÉG		0.8632	1.0938	0.7974
SZÁMÍTOTT t-ÉRTÉK		18.0658	35.6986	25.2812
SZIGNIFIKANCIASZINT		0.0	0.0	0.0
KORRELÁCIÓS KOEFF.		0.9516	0.9869	0.9744
VARIANCIA- ANALÍZIS	REGR. F-ÉRTÉK	326.4	1274.0	639.1
	SZIGNIFIKANCIASZINT	0.0	0.0	0.0

A párhuzamos mérések eredményeiből mintánként és módszerenként variációs együtthatót számoltunk. Ezek értékeit a 2. táblázatban tüntettük fel.

## 2. táblázat: A módszerekre vonatkozó variációs együtthatók

MINTA	MÓDSZER > ENZIMES CV %	Cd-OSZLOP CV %	REBELEIN CV %
Paraj	5	6.6	2.3
Paraj	10	3.5	1.1
Paraj	5.4	6.6	2.5
Paraj	5	28.1	13.4
Paraj	0.8	2	5.9
Paraj	4.8	20.1	1.9
Paraj	5.7	1.3	4.5
Zöldbab	3.4	18	17.4
Zöldbab	4.5	6.4	5.7
Zöldborsó	0	•	21.6
Brokkoli	7.5	6.7	4.3
Kelbimbó	•	22.8	•
ÁTLAG	4.7	11.1	7.3

- Figyelmen kívül hagyott érték

Az egyszempontos variancia-analízis alapján – 95 %-os valószínűségi szinten – a módszerek által szolgáltatott eredmények között szignifikáns eltérés van. A módszereket páronkénti regressziós analízissel összehasonlítva, köztük szoros összefüggés áll fenn, a korrelációs koefficiensek értéke 0,95 felett van (1. táblázat).

Az eltéréseket - feltételezhetően - valamilyen szisztematikus hiba okozza, ezért az eredményközlésnél minden esetben indokoltnak látjuk megnevezni az alkalmazott vizsgálati módszert.

Összehasonlító vizsgálatunk tanúsága szerint a kadmium-oszlopos módszerhez képest a módosított Rebelein módszerrel "fölmérünk", az enzimes meghatározás viszont alacsonyabb nitrát-értékeket ad.

A szabványos módszerben alkalmazott kadmium-oszlop redukálóképessége a használat során csökken. Tapasztalataink azt mutatják, hogy magas nitráttartalmú minták esetén 10-15 vizsgálat után az oszlop regenerálásra szorul. Ez azt jelenti, hogy nagyszámú minta vizsgálatánál a regenerálási fázis a kivitelezés időszükségletét jelentősen megnövel(het)i.

A párhuzamos mérések eredményeiből számított variációs együtthatók értéke nagy ingadozást mutat, ami arra enged következtetni, hogy a módszerek véletlen hibája "dózisfüggő". Alacsony mérendő

nitráttartalom esetén a variációs együttható értelmezhetetlen lehet (2. táblázat).

A variációs együtthatók átlagai alapján az enzimes meghatározás reprodukálhatósága jónak, a módosított Rebelein módszeré megfelelőnek, a kadmium-oszlopos eljárásé elfogadhatónak ítéltető.

Az egyes módszerek által szolgáltatott eredmények közötti eltérések okainak tisztázásához további vizsgálatok (enzimes teszt-kombinációk) szükségesek.

Összefoglalásképpen megállapíthatjuk, hogy az enzimes nitrát-meghatározás kipróbálásával egy gyorsan és egyszerűen kivitelezhető módszert ismerhettünk meg, amelynek reprodukálhatósága jóval felülmúlja a "hagyományos" módszereket (még régi típusú spektrofotométer használata mellett is). A teszt-kombinációhoz mellékelt, jól kidolgozott módszertani útmutató az alkalmazást nagymértékben megkönnyíti. Felhasználása különösen sorozatvizsgálatok esetén lehet praktikus és gazdaságos.

## IRODALOM

- [ 1 ] Haraszty Á. (Szerk.): Növény szerkezettan és növényélettan, Tankönyvkiadó, 1988., Budapest
- [ 2 ] Pethő M.: Mezőgazdasági növények élettana, Mezőgazdasági Kiadó, 1984., Budapest
- [ 3 ] Farkas G.: Növényi biokémia, Akadémiai Kiadó, 1984., Budapest
- [ 4 ] Loch J., Nosticzius Á.: Alkalmazott kémia. Agrokémia és növényvédelmi kémia, Mezőgazdasági Kiadó, 1983., Budapest
- [ 5 ] Gasztonyi K., Lásztity R. (Szerk.): Élelmiszer-kémia 1., Mezőgazdasági Kiadó, 1992., Budapest
- [ 6 ] Balatoni M., Ketting F. (Szerk.): Tejipari kézikönyv, Mezőgazdasági Kiadó, 1981., Budapest
- [ 7 ] Saint-Blanquat, G. de: Aspects toxicologiques et nutritionnels des nitrates et des nitrites, Ann. Nutr. Alim. 34 (1980), 827-864.
- [ 8 ] Rodler I. (Szerk.): Ételmérgezések, ételfertőzések, Medicina Könyvkiadó, 1986., Budapest
- [ 9 ] Rodler I.: Élelmezéshigiéné. Élelmezés-egészségügy az étkeztetésben és a kereskedelemben, Medicina, 1988., Budapest
- [10] Bakács T., Jeney E. (Szerk.): A higiéné tankönyve, Medicina Könyvkiadó, 1960., Budapest
- [11] Kertai P.: Közegészségtan, Medicina Könyvkiadó, 1982., Budapest
- [12] Pálinkás L. (Szerk.): Településegészségtan, Medicina Könyvkiadó, 1971., Budapest
- [13] Péntes B.: Mérgező anyagok a környezetben, Mezőgazdasági Kiadó, 1989., Budapest
- [14] Csíki P.: Klinikai toxicologia, Medicina Könyvkiadó, 1968., Budapest
- [15] Szamosi J.: Gyermekkori mérgezések. A gyakorló orvos könyvtára 194., Medicina Könyvkiadó, 1980., Budapest

- [16] Martinetz, D., Lohs, K.: Poison. Sorcery and Science. Friend and Foe, Edition Leipzig, 1987., Leipzig
- [17] Ludewig, R., Lohs, K.: Akute Vergiftungen, VEB Gustav Fischer Verlag, 1988., Jena
- [18] Karsai F. (Szerk.): Állatorvosi kórélettan, Mezőgazdasági Kiadó, 1982., Budapest
- [19] Brydl E. (Szerk.): A szarvasmarha anyagforgalmi betegségei és mérgezései, Mezőgazdasági Kiadó, 1987., Budapest
- [20] Horváth Z.: Állatorvosi klinikai laboratóriumi vizsgálatok, Mezőgazdasági Kiadó, 1979., Budapest
- [21] Horváth Z. (Szerk.): Szarvasmarha-egészségtan, Mezőgazdasági Kiadó, 1983., Budapest
- [22] Simon F.: Állatorvosi toxikológia. Kézirat, Állatorvostudományi Egyetem, 1981., Budapest
- [23] 4/1978. (VI. 25.) Eü. M. sz. rendelete az élelmiszerek ártalmas vegyi szennyeződésének elhárításáról, MÉM Értesítő (1978) 18. szám
- [24] Schormüller, J. (Ges. red.): Handbuch der Lebensmittelchemie. Bd. 7., Springer Verlag, 1968., Berlin Q Heidelberg Q New York
- [25] Lásztity R., Törley D. (Szerk.): Élelmiszer-analitika I-II., Mezőgazdasági Kiadó, 1987., Budapest
- [26] Upor E., Mohai M.-né, Novák Gy.: Fotometriás nyomelemzési módszerek, Műszaki Könyvkiadó, 1978., Budapest
- [27] Babko, A. K., Pilipenko, A. T.: Photometric Analysis, Mir Publishers, 1976., Moscow
- [28] Fries, J., Getrost, H.: Organic Reagents for Trace Analysis, E. Merck, 1977., Darmstadt
- [29] Uresch F., Takácsné Dénes K., Dömsödi F., Illyés E.-né, Kulcsár F., Kunischné Szabó E.: Gyors módszer élelmiszerek nitráttartalmának meghatározására. A módszer interlaboratóriumi kipróbálása, Élelmiszervizsgálati Közlemények 32 (1986) 1, 4-9.
- [30] Szabolcsi G. (Szerk.): Enzimes analízis, Akadémiai Kiadó, 1991., Budapest
- [31] Törley D., Vámosné Vigyázó L.: Az enzimes analízis helye és perspektívái a korszerű élelmiszeranalitikában. I. Az enzimes analízis elméleti alapjai, Élelmiszervizsgálati Közlemények 24 (1978) 5-6, 157-166.
- [32] Vámosné Vigyázó L., Törley D.: Az enzimes analízis helye és perspektívái a korszerű élelmiszeranalitikában. II. Állati eredetű élelmiszerek analitikája, Élelmiszervizsgálati Közlemények 24 (1978) 5-6, 167-172.
- [33] Vámosné Vigyázó L., Törley D.: Az enzimes analízis helye és perspektívái a korszerű élelmiszeranalitikában. III. Növényi eredetű élelmiszerek analitikája, Élelmiszervizsgálati Közlemények 25 (1979) 1-2, 9-19.
- [34] MSZ 3615-80 Tartósított élelmiszerek nitrit- és nitráttartalmának meghatározása
- [35] MSZ 6905-81 Húskészítmények nitrit- és nitráttartalmának kimutatása és meghatározása
- [36] Rebelein, H.: Beitrag zur Bestimmung und Beurteilung des Nitratgehaltes von Traubenmosten und Wein, Dtsch. Lebensmittel-Rdsch. 63 (1967), 233-239.
- [37] Methods of Biochemical Analysis and Food Analysis, Boehringer Mannheim GmbH., 1989., Mannheim
- [38] Beutler, H.-O.: Die Bestimmung von Nitrat mit Hilfe eines enzymatischen Verfahrens. Die enzymatische Lebensmittelanalytik. Heft 12., Boehringer Mannheim GmbH., Tutzing
- [39] Kretschmar, R., Kretschmar, T.: Enzymatische Nitratbestimmung in kommunalem Abwasser, Vom Wasser 70 (1988), 119-128.
- [40] Sváb J.: Biometriai módszerek a kutatásban, Mezőgazdasági Kiadó, 1981., Budapest
- [41] STATGRAPHICS Users Guide, 1987., STSC, Inc.

# **Élelmiszerek nitráttartalmának meghatározása különbéle módszerekkel**

*Varga B.-né, Sebestyén R. és Nagyné Tukovics É.*

A szerzők gyorsfagyasztott zöldségfélék nitráttartalmát határozták meg, nitrátté redukálást követő spektrofometriás módszerekkel, illetve enzimes analitikai eljárással. Céljuk az volt, hogy - az eredmények ismeretében - az összehasonlított módszerek közül kiválasszák azt, amely gyors és pontos eredményeket ad, ezenfelül könnyen kivitelezhető. Az eredmények statisztikai értékelése alapján az egyes módszerek által szolgáltatott eredmények között szignifikáns eltérés van; az eltérést - feltételezhetően - valamilyen szisztematikus hiba okozza. Sorozatvizsgálatokhoz az enzimes eljárást tartják praktikusnak és gazdaságosnak.

## **The Determination of Nitrate Content in Foodstuffs by Different Methods**

*Varga, B., Sebestyén, R. & Nagy-Tukovics, É.*

The nitrate content of quick frozen vegetables was determined by spectrophotometric methods following reduction into nitrite as well as enzymatic analytical procedure. The aim of the authors was- with the knowledge of results- to select from the compared methods the one which gives fast and accurate results and easily accomplishable. On the basis of statistical evaluation of the results, there is a systematic difference in the results given by the different methods: this difference is probably caused by a systematic error. For serial measurements the enzymatic procedure is considered to be more practical and economic.

## **Bestimmung des Nitratgehalts von Lebensmitteln mit verschiedenen Methoden**

*Varga, B.-né und Mitarb.*

Der Nitratgehalt von tiefgefrorenen Gemüsearten wurde mit spektrophotometrischen bzw. enzymanalytischen Methoden nach Reduktion zu Nitrit bestimmt. Das Ziel bestand darin, dass in Kenntnis der Ergebnisse von den verglichenen Methoden diejenige ausgewählt wird, die schnelle und exakte Ergebnisse liefert und darüber hinaus einfach ausführbar ist. Auf der Grundlage der statistischen Auswertung der Ergebnisse bestehen zwischen den mit den einzelnen Methoden ermittelten Ergebnissen signifikante Abweichungen, wobei die Abweichungen vermutlich durch irgendwelche systematische Fehler verursacht werden. Für Serienuntersuchungen wird die enzymatische Methode für praktisch und ökonomisch gehalten.