

Az élelmiszeranalitika helyzete és várható fejlődési trendjei az EURO FOOD CHEM VIII. konferencia tükrében

Lásztity Radomir

BME Biokémiai és Élelmiszertechnológia Tanszék, Budapest

Érkezett: 1995. október 15.

A fenti címmel (Current Status and Future Trends in Analytical Food Chemistry) került sorra az EURO FOOD CHEM VIII. elnevezésű konferencia Bécsben, 1995. szeptember 18-20 között. A szervezőknek (Európai Kémikus Egyesületek Szövetségének Élelmiszerkémiai Munkabizottsága, amelynek a MÉTE is tagja) sikerült az európai élelmiszeranalitika számos vezető szakemberét megnyerni plenáris előadónak, emellett a nagy érdeklődés és a Tudományos Bizottság — amelynek egyik tagja ezen ismertetés szerzője volt — alapos munkája lehetővé tette az előadások és poszterek gondos tartalmi szelekcióját, ami hozzájárult a rendezvény magas színvonalához és gazdag információtartalmához.

A tudományos program a komplex problémakört a következő kulcskérdésekre bontotta fel:

- Mintavétel és mintaelőkészítés
- Kromatográfiai és ehhez kapcsolódó technikák
- Szenzortechnika
- Spektroszkópiai módszerek
- Bioaffinitáson alapuló eljárások

31 előadás hangzott el (ebből 2 magyar előadó) és közel 200 posztert mutattak be (ebből 8 magyar poszter). Ezek legfontosabbnak ítélt megállapításait, tapasztalatait foglaljuk össze a következőkben, a programban szerepelt témakörök sorrendjében.

Mintavétel, mintaelőkészítés

Nem véletlen, hogy az élelmiszervizsgálati módszerek nemzetközi szabványosításával foglalkozó szervezetekben (ISO, FAO/WHO, CODEX ALIMENTARIUS) a leghosszadalmasabb viták éppen a mintavétellel kapcsolatban hangzanak el. A fokozódó minőségi követelmények, a fogyasztók védelmét erősíteni kívánó törekvések végső célja mindazon kockázatok valószínűségének csökkentése,

amelyek a fogyasztó akár gazdasági, akár élelmiszerezésségügyi megkárosítását, illetve veszélyeztetését okozhatják.

Tekintve, hogy a gyakorlati gazdasági okokból az esetek túlnyomó többségében nincsen módja a minőségellenőrzést végzőnek egy-egy tétel valamennyi egységét megvizsgálni, dönteni kell arról, milyen valószínűségi biztonsági szintet kívánnak elérni és ehhez milyen mennyiségű és eloszlású mintát kell venni. Ezt célozzák megfogalmazni és előírni a különböző mintavételi tervek, amelyekről W. J. de KOE (Hollandia) adott áttekintést. Különösen lényeges ez a probléma a nagy toxicitású élelmiszerezszennyezőknél (pl. aflatoxin), ahol az egészségügyi szakember elvárna a 100%-os biztonságot, ami azonban a gyakorlatban nem teljesíthető.

A kompromisszum lehetőségét - figyelembe véve az analitikai eljárások teljesítőképességét - az előadó a nyers földimogyoró példáján illusztrálta, bemutatva, hogy az aflatoxin határértékére a jelenlegi lehetőségeink mellett 5-10 μkg adódik. Említette ugyan, de nem elemezte az előadó a mintavétel technikai kivitelezésével összefüggő kérdéskört.

A mintaelőkészítés helyzetéről STEPHANY R. W. és van GINKEL, L. A., az EU referencia laboratóriumának munkatársai adtak áttekintést. Az előadásban a fő hangsúlyt arra a súlyponti kérdésre helyezték, hogy milyen biztonsággal tudjuk a mintából a meghatározandó komponens teljes mennyiségét kivonni és meghatározni. A mai gyakorlatban erre a kérdésre úgy kívánunk választ kapni, hogy megvizsgáljuk a mintához hozzáadott, ismert mennyiségű standard komponens kinyerési százalékát. Feltételezzük, hogy ez az érték érvényes a mintában jelenlevő kinyerendő komponensre is. Ez a feltételezés azonban mindenképpen kritikusan vizsgálandó, elsősorban a mátrix-hatás címszó alatt összefoglalt tényezők miatt, másrészt a szerves vegyületek esetében az izomerek változó arányú jelenléte miatt. A fenntartások miatt kívánatos, hogy a visszanyerési vizsgálatok a következő követelményeknek tegyenek eleget:

- az eredmények jól reprodukálhatók legyenek;
- a kinyerés minél szorosabban megközelítse a 100%-ot;
- a visszanyerés legyen konstans lehetőleg minél nagyobb koncentrációtartományban;
- a visszanyerési százalék ne változzon lényegesen a tárolás során.

A 100%-osnál lényegesen kisebb visszanyerés, ha mindig állandó, elfogadható ugyan, de inkább kvalitatív célokra.

A szekció további előadásai gyakorlati példákon (sajt-romaanyagok, peszticidok, heterociklikus aminok) mutatták be a különböző extrakciós technikák alkalmazhatóságát. Észlelhető a szuperkritikus extrakció, ultrahangos előkezelés, immunanalitikai módszerek terjedése a mintaelőkészítés, tisztítás folyamatában. Ebben a szekcióban hangzott el Tömösközi Sándor és társai előadása a koleszterin meghatározásról áramló injekciós analitikai (FIA) eljárással.

Kromatográfiás és ehhez kapcsolódó technikák

KLEINSCHNITZ, M. és társai bevezető plenáris előadása a királis szerves molekulák kromatográfiájával foglalkozott.

A kromatográfiás eljárás ezen speciális irányzatát stimuláló tényezők közül elsősorban kettőt lehet megemlíteni. Az egyik az élelmiszerek eredetvizsgálata, ahol igen gyakran az egyes vegyületek izomerjeinek az eloszlása segíthet, adhat megfelelő támpontot (pl. D-aminosavak, L- és D-tejsav stb.), míg a másik egyes aromakomponensek eltérő sajátságai, továbbá kontaminánsok, illetve metabolitjaik toxicitásában mutatkozó nagy különbségek az izomerek esetében. Az előadás fő témakörei között szerepelt a királis derivatizáló ágensek (chiral derivatizing agents = CDA) alkalmazása. A már ma több mint ötven CDA közül, amelyet a kromatográfiában alkalmaznak, az izotiocianát származékképzés lehetőségeit mutatták be egyes élelmiszerkémiai szempontból érdekes királis vegyületek elválasztásában és meghatározásában. A további példák a királis állófázisok (chiral stationary phase=CSP) alkalmazásával foglalkoztak, amelyek elsősorban az enantiomerek elválasztásánál használhatók fel sikeresen. A felsorolt példák technikájukat tekintve felölelték a kromatográfiás eljárások csaknem teljes spektrumát (planár kromatográfia, HPLC, gázkromatográfia, szuperkritikus fluid kromatográfia, ellenáramú kromatográfia /counter-current-chromatography=CCC/).

A szekció másik fő előadása a kromatográfiás eljárásokhoz kapcsolódó detektálási módszereket tekintette át, különös tekintettel a multidimenzionális technikákra. A közel húsz, ma már alkalmazott technika közül az előadó (MANGIA, A.) a legfontosabbnak a következőket ítélte meg:

- folyadékkromatográfia - tömegspektrometria;
- szuperkritikus fluid kromatográfia - tömegspektrometria;
- kapilláris elektroforézis - tömegspektrometria;
- NMR detektálási technikák.

Ismerve a kromatográfiás eljárások széleskörű alkalmazhatóságát, nem meglepő, hogy a legtöbb előadást, illetve posztert ebben a szekcióban jelentették be. Érdekesekek és gyakorlati szempontból is fontosak azok a kutatások, amelyek lehetővé teszik az aminosav analizátorok szélesebb körű hasznosítását. Több detektálási technika (köztük fluoreszcens technika) kombinált alkalmazása lényegesen növelte a meghatározások érzékenységét, másrészt egy sor aminosav származék, illetve feldolgozás közben az élelmiszerekben keletkező nitrogéntartalmú vegyület (aminok, furozin, lizinoalanin, pentozidin stb.) mutatható ki és határozható meg. A nagyobb érzékenység egyben lehetővé teszi az enzimes hidrolizátumok közvetlen vizsgálatát is.

1. táblázat: A kapilláris elektroforézis alkalmazási lehetőségei
(Engelhardt, H., Beck, W., Schmitt, Th.: Kapillarelektrophorese, Methoden und Möglichkeiten, Verlag Vieweg, Braunschweig, 1994)

Detektálás alapelve	Kimutatási határ		Alkalmazási példák
	Mennyiség (mol)	Koncentráció (mol/l)	
UV-abszorpció	10 ⁻¹⁵ - 10 ⁻¹³	10 ⁻⁷ - 10 ⁻⁴	aroma vegyületek, fehérjék, nukleinsavak
Indirekt abszorpció	10 ⁻¹⁶ - 10 ⁻¹³	10 ⁻⁸ - 10 ⁻⁴	aminok, szerves ionok, cukrok
Fluoreszcencia	10 ⁻¹⁸ - 10 ⁻¹³	10 ⁻⁹ - 10 ⁻⁴	aminosavszármazékok, nukleinsavak, fehérjék, peptidek
Indirekt fluoreszcencia	10 ⁻¹⁶ - 10 ⁻¹⁴	10 ⁻⁷ - 10 ⁻⁵	alkoholok, aminok, anionok, kationok, cukrok
Amperometria	10 ⁻¹⁶ - 10 ⁻¹⁴	10 ⁻⁸ - 10 ⁻⁶	redukáló, illetve oxidáló vegyületek
Konduktometria	10 ⁻¹⁸ - 10 ⁻¹⁶	10 ⁻⁷ - 10 ⁻⁵	ionos vegyületek
Potenciometria	10 ⁻¹⁹	10 ⁻⁸	alkáli és alkáli földfémek
Tömegspektró- metria	10 ⁻¹⁷	10 ⁻⁸	peptidek, fehérjék, drogok
Radioaktivitás	10 ⁻¹⁸ - 10 ⁻¹⁶	10 ⁻¹⁰ - 10 ⁻⁸	P ³² és C ¹⁴ biokemikáliákban

A többi előadás közül itt csak a kapilláris elektroforézis lehetőségeit tárgyalót említem meg. A potenciális alkalmazásokról, a detektálási módszerekről és érzékenységről az 1. táblázat ad áttekintést.

A gyakorlati példák közül megemlítem hogy a kapilláris elektroforézises technika lehetőséget nyújt víz- és zsíroladható vitaminok egyidejű elválasztására és kimutatására egy mintából SDS-micellák képzésével. A vízoldható vitaminok kisebb oldhatósága a micellákban rövidebb migrációs időtartamokat eredményez, míg a nagyobb affinitású zsíroladható molekulák lassabban migrálnak a detektorhoz. Az eljárás micellár electrokinetic chromatography (MECC) néven is ismert.

Szenzor technika

A gyors gyártásközbeni átvételi, üzemi ellenőrzés és szabályozás keltette igények nyomán nagy fejlődés következett be a különböző szenzorok alkalmazása területén. A plenáris előadó (WOLFBEIS, O. S.) a főhangsúlyt a bioszenzorokra, továbbá a száloptikás technikára helyezte, amelyek az ezredfordulón nagy szerephez fognak jutni. Az enzimes szenzorok alkalmazását tovább bővítheti a szerves oldószerben is használható bioszenzorok kialakítása. Példaként említhetem tirozináz bioszenzor alkalmazását hexános közegben fenolvegyületek meghatározására olivaolajban. Néhány enzimes bioszenzorról a 2. táblázat ad áttekintést.

Spektroszkópiai módszerek

Bár a spektroszkópiai módszerek az élelmiszeranalitika legrégebbi eljárásai közé tartoznak, mégis jelentőségük változatlanul nagy, köszönhetően az újabb elméleti és gyakorlati lehetőségek feltárásának. Az újabb lehetőségek közül kétségtelenül a közeli infravörös technika (near infrared=NIR) alkalmazása a legjelentősebb. Ez volt ezen szekció plenáris előadásának (NAES, T.) egyik fő témája. A mérések érzékenységének növelése, továbbá a többváltozós matematikai-statisztikai módszerek szélesebbkörű alkalmazása lehetővé teszi egyes, a NIR meghatározásokkal kapcsolatos problémák (pl. szelektivitás kérdése, kalibráció, kolinearitás kérdése) jobb megoldását és az alkalmazási terület kiszélesítését, nemcsak egyes kémiai komponensekre, hanem komplex jellemzőkre is (pl. gabonaminősítés).

Fontos irányzat a spektroszkópiás technikában általában is a keverékek direkt vizsgálata előzetes elválasztási (tisztítási) eljárások nélkül. Ebből a szempontból is a NIR és NMR spektrumokat tartják a legjobban felhasználhatónak. Segítségükkel nemcsak kémiai komponenseket lehet közvetlenül az élelmiszerekben meghatározni, de egy sor egyéb kérdésre is választ lehet kapni. Így pl. azonosítani lehet speciális termékeket, fajtákat, mikroorganizmeket megkülönböztetni, genotípusos és fenotípusos különbségeket kimutatni, különbözően

takarmányozott állatok termékeinek (pl. tojás) megkülönböztetése is elvégezhető.

A ma divatos probléma, az élelmiszer sugárkezelttségének kimutatásában szintén fontos szerephez juthatnak egyes spektroszkópai technikák, mint pl. az elektron spin rezonancia (ESR), a lumineszcenciás technika (fotostimulált lumineszcencia=PSL, termolumineszcencia=TL), valamint a lipidek kombinált LC-GC vizsgálata. Érdekes lehetőségeket nyújt az emissziós infravörös spektrumok vizsgálata, a Raman Spektroszkópia, valamint a fotoakusztikus spektroszkópia is.

2. táblázat: Bioszenzorokban felhasznált immobilizált enzimek
(Wolfbeis, 1991)

Enzim	Vizsgált összetevő	Mért reakció komponens (transducer)
Dekarboxiláz		
Glutamát dekarboxiláz	Glutamát	CO ₂
Oxalát dekarboxiláz	Oxalát	CO ₂
Lizin dekarboxiláz	Lizin	Kadaverin
Hidrolázok		
Kreatinin hidroláz	Kreatinin	Ammónia
Észteráz	Észterek	Proton (pH)
Ureáz	Karbamid	Ammónia
Penicillináz	Penicillin	Proton (pH)
Oxidázok		
Alkohol oxidáz	Alkoholok	Oxigén
Aszkorbát oxidáz	Aszkorbát	Oxigén
Bilirubin oxidáz	Bilirubin	Oxigén
Koleszterin oxidáz	Koleszterin	Oxigén
Glükóz oxidáz	Glükóz	pH, oxigén
Glutamát oxidáz	Glutamát	Oxigén
Laktát oxigenáz	Laktát	Oxigén
Laktát monooxigenáz	Laktát	Oxigén, CO ₂
Szulfid oxidáz	Szulfid	Oxigén
Xantin oxidáz	Xantin	Oxigén

Bioaffinitáson alapuló eljárások

Az antitestek alkalmazása az élelmiszerkémiában ma már kezd általánossá válni. Az utóbbi 15 évben alkalmazásuk a jelentéktelentől egészen az egyik legfontosabb bioanalitikai technikáig fejlődött fel. Nagyfokú specifitásuk, gyorsaságuk, érzékenységük folytán az immunkémiai módszerek ma már széleskörűen használatosak. A plenáris előadó (MORGAN, M. R. A.) többek között a mikotoxinokat (aflatoxin, ochratoxin) peszticideket, specifikus fehérjéket emelte ki, megemlítve egyes mikrobák azonosításának lehetőségeit is. A jövőben várható fejlődés kulcsa az alkalmazott antitestek szelektivitásának biztosítása. Ilyen szempontból fontos szerephez juthatnak a rekombináns antitestek, amelyek sok manipulálási lehetőséget nyitnak meg.

A polimeráz láncreakció (polymerase chain reaction=PCR) mint az élelmiszerekben előforduló speciális nukleinsavak vizsgálatára is alkalmas módszer, a legújabb technikák közé tartozik. Speciális DNS-ek, DNS-szegmensek kimutatása nagy segítséget jelenthet egy sor növényi vagy állati eredetű nyersanyag (késztermék) kimutatásánál. Ilyen feladat lehet például idegen fehérje kimutatása húskészítményekben vagy akár a genetikailag módosított nyersanyag jelenlétének megállapítása.

A plenáris előadás szerzői (CANDERIAN, U. és MEYER, R.) egyrészt húsok eredetével kapcsolatos vizsgálatokat ismertettek, másrészt genetikailag módosított paradicsom jelenlétének detektálását mutatták be. Mitokondriális gének szekvenciálásával (pl. citokrom-b, riboszomális RNS) erősen konzervatív gén szakaszok izolálhatók a gén amplifikáció számára, amelyek lehetővé teszik az állatok egy sorából származó izomszövetek megkülönböztetését. Szerzők egy 359 bp citokrom b fragmentet használtak fel a húsok azonosításához egy sor restriktív enzim felhasználásával. Az azonosított húsféleségek(izomszövetek): ló, sertés, vaddisznó, marha, bivaly, juh, kecske, csirke és pulyka voltak.

A genetikailag módosított növények közül a Calgene Inc. (Davis, CA, USA) által védett Flavr Savr paradicsom kimutatását oldották meg. Ez a paradicsomfajta nem rendelkezik poligalakturonáz aktivitással, másrészt kanamicin rezisztencia gént tartalmaz. Ezek mutathatók ki PCR technikával.

Harmadik példaként különböző mikrobák (elsősorban élelmiszerekben előforduló patogének) azonosítása szolgált ugyancsak PCR technikával.

Ebben a szekcióban hangzott el a másik magyar előadás (SASS KISS, A.), amely immunanalitikai módszert ismertetett a citruslevek valódi gyümölcstartalmának meghatározására.

Egészeben megállapítható, hogy a műszeres fizikai, fizikai kémiai elveken nyugvó, vegyszert nem vagy alig igénylő eljárások térhódítása tovább tart. Ugyancsak általános törekvés a komplex rendszerek (keverékek) közvetlen, elválasztás nélküli vizsgálata vagy a meghatározandó komponens szelektív kiválasztásával (pl. immuntechnika) vagy a bonyolult spektrumokban rejlő információk kihámozása, megfelelő matematikai módszerekkel és azok komplex értékelése.

I R O D A L O M

Schreier, P., Bernreuther, A., Huffer, M.: Analysis of chiral organic molecules, W. de Gruiter, Berlin, 1995.

Sontag, G., Pfannhauser, W.: Current Status and Future Trends, Proceedings of EURO FOOD CHEM VIII., G.Ö.Ch., Wien, 1995, Vol 1-3

Wolfbeis, O. S.: Fiber Optic Chemical Sensors and Biosensors, CRC Press Inc., Boca Raton, 1991.

Wolfbeis, O. S.: Immobilized Enzymes in Optical Biosensors, in: "Immobilized Macromolecules: Application Potentials", Sleytr, U.B., Messner, P., Pum, D. and Sara, M., Springer Verlag, London-Berlin-Heidelberg, Ch. 11. pp. 161-178, 1992.



F S T A C D R O M

A KÉKI-ÉLMINFO 1993 óta rendelkezik az IFIS (Nemzetközi Élelmiszer Információs Szolgálat) és a SilverPlatten által megjelentetett FSTA (Élelmiszer Tudomány és Technológiai Kivonatok) adatait tartalmazó CD ROM-al, amely a világ legnevesebb és legelterjedtebben használt információs forrása az élelmiszer-tudomány és a -technológia területén.

Várjuk érdeklődő megkeresését.

1536 Budapest, Pf.: 393. **KÉKI-ÉLMINFO**

Tel: 156 5082

Fax: 274 1005