

***Élelmiszerek roncsolásmentes analitikai vizsgálata fototermikus módszerekkel***

című kutatási téma szakmai záróértékelése

**1. Vizsgálati módszerek**

A megnevezett kutatási téma vizsgálati módszerei alapvetően három területre oszthatók. Egyrészt az alkalmazott fotoakusztikus módszerre (szilárd élelmiszeripari minták esetén), másrészt az ún. "optothermal window" (OW) módszerre (elsősorban folyadék, illetve kolloid minták esetén), harmadrészt pedig azokra a fizikai, kémiai standard módszerekre (optikai spektrofotometria, diffúz reflexiós spektrofotometria, szilárdfázisú mikroextrakciós eljárás, konvencionális kémiai analitikai módszerek), amelyeket a fototermikus technikák referenciájaként alkalmaztunk.

A fotoakusztikus és OW módszert együttesen fototermikus módszereknek nevezzük. A módszerek alapján a fény-anyag kölcsönhatás jelenti. A vizsgált minta által abszorbeált fényenergia egy része nemsugárzásos folyamatok révén a mintában hővé alakul. A keletkezett hő detektálásában lévő különbségek alapján különböztetjük meg a fototermikus módszereket. További közös vonása ezeknek a technikáknak, hogy a mintára beeső fényt valamilyen módon moduláljuk, megszaggatjuk (mechanikailag egy tárcsával, vagy optoelektronikus módon). A szaggatás következtében a minta felmelegedése is periodikus lesz.

A fototermikus módszerek nagy előnye a konvencionális módszerekkel szemben, hogy nincsenek szigorú kritériumok a minták optikai és egyéb tulajdonságaira nézve, azaz nem kell, hogy a minta átlátszó legyen, a felületi effektusok sem zavarók. Ebből adódóan porok és egyéb erősen fényszóró anyagok is közvetlenül vizsgálhatók. Az alábbiakban leírt jelkialakulási mechanizmusokból adódóan a mért jelek a vizsgált minták optikai és termikus sajátságainak függvényei. Fontos megjegyezni, hogy a módszerek dinamikus tartománya kb 7-8 nagyságrend és a mért jel tág határok között lineárisan függ a beérkező fény intenzitásától. További unikális képessége a módszereknek, hogy a fényszaggatás frekvenciája által is meghatározott termikus diffúziós hossz szabja meg a mintában a jel kialakulásának mélységét. Ez egy sajátos mélységi analízist tesz lehetővé. A vizsgált mintavastagság általában a szaggatási frekvencia négyzetgyökével fordítottan arányos.

Ezt a periodikusan változó hőmérsékletet az előzőekben már említett akusztikus módon úgy detektáljuk, hogy a mintát egy lezárt ún. fotoakusztikus kamrában helyezük el, amelynek teréhez egy mikrofont csatlakoztatunk. A minta felmelegedése a hővezetés révén periodikusan melegíti fel a kamrában lévő gázt (rendszerint levegő), amelyben így nyomásingadozás jön létre. Ezt a - fényszaggatás frekvenciájával megegyező frekvenciájú - nyomásingadozást érzékeli a mikrofon. Az így kapott jelet fotoakusztikus jelnek nevezzük.

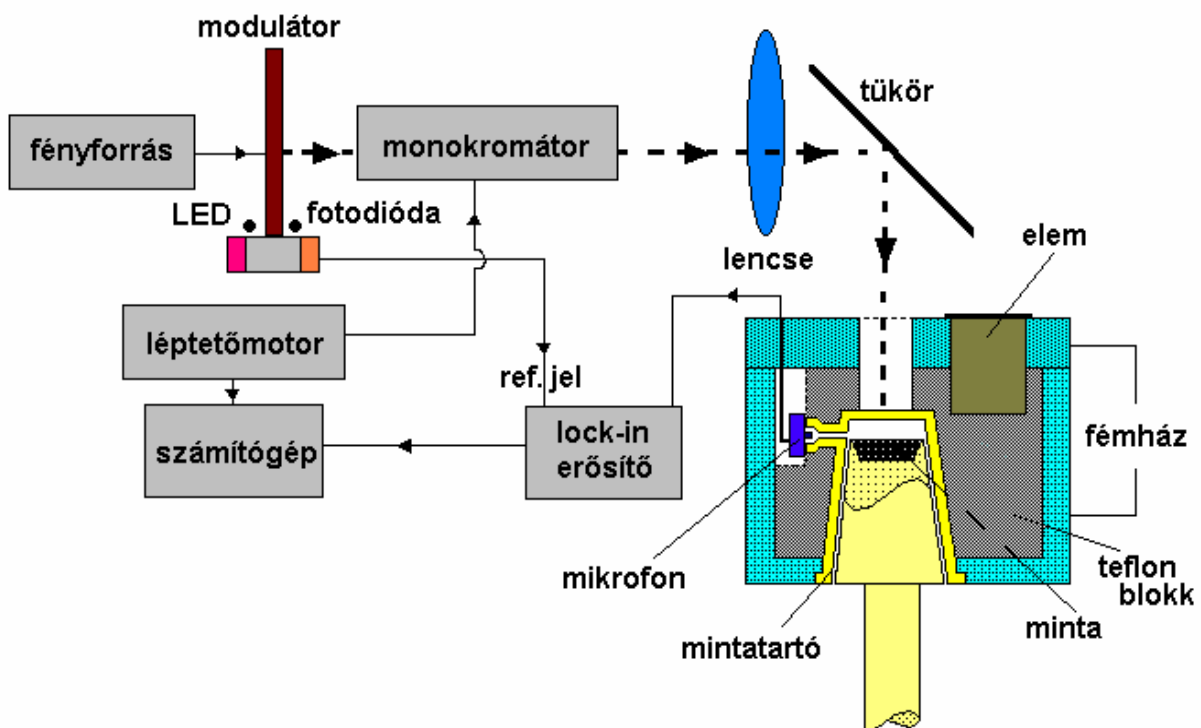
Az OW módszernél a minta periodikus felmelegedését egy optikai ablak és egy piezoelektromos transzducer (PZT) segítségével detektáljuk. A mintát az optikai ablakra helyezve – a minta és az ablak közötti jó hővezetésnek köszönhetően – az periodikusan felmelegíti az ablakot, aminek következtében annak térfogata változik. Ez a periodikus térfogatváltozás a PZT-t mechanikailag deformálja, amely ennek következtében elektromos jelet ad. A minta és az ablak közötti jó hővezetés szükséges feltétele a módszer alkalmazásának. Ez a magyarázata annak, hogy elsősorban folyadékok és kolloid anyagok mérhetőek jól.

## 2. Kísérleti berendezések

Mindkét esetben a jelek detektálása lock-in technikával történik. Ez egy fázisérzékeny erősítést jelent, amely lehetővé teszi ismert frekvenciájú elektromos jelek mérését még olyan esetekben is, amikor a mérendő jel zajszinten van.

### 2.1. Fotoakusztikus rendszer (1. ábra)

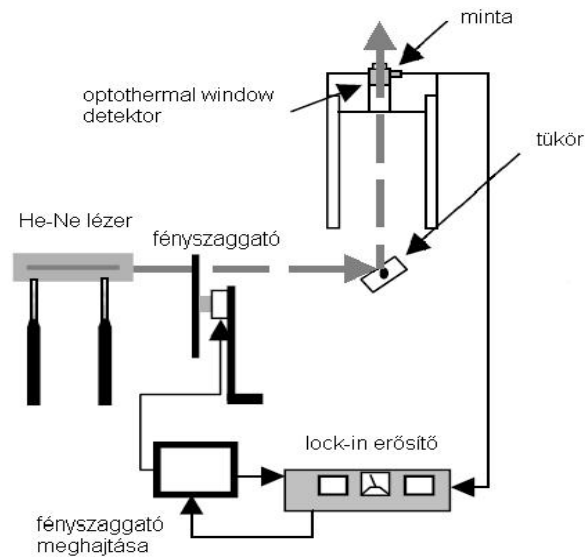
A fotoakusztikus berendezés, amely főbb elemeit tekintve áll egy fényforrásból (Xe lámpa, lézer), fénymodulátorból (a mechanikus működési tartománya: 10 – 300 Hz, az akusztóoptikus modulátor működési tartománya 0.001 – 1 GHz), monokromátorból (Joben-Yvon-H10 az UV-VIS tartományra, valamint Joben Yvon Triax 80 az IR tartományra és a szükséges léptetőmotorok), a mikrofont is tartalmazó fotoakusztikus kamrából (saját tervezésű és kivitelezésű), lock-in erősítőtől (Stanford SR-530), továbbá számítógépből, alkalmas 200 nm-től 2200 nm-ig fotoakusztikus spektrum felvételére. Egyetlen problémát az jelenti, hogy az IR tartományban az UV és VIS tartományokhoz képest jelentősen gyengébb a fényforrás intenzitása, ezért az IR-ben vizsgálható mintáknál a detektálási határ elmarad a kívánatostól.



1. ábra. A fotoakusztikus berendezés felépítése

## 2.2. Az OW rendszer (2. ábra)

Az OW berendezés részei az alábbiak: fényforrás (He-Ne, diódalézer a szükséges Peltier elemmel és tápegységgel), fényzaggató (akusztó-optikus modulátor), OW detektor (zafir ablak, piezoelektromos kristály), lock-in erősítő (Stanford SR-810), számítógép.



2. ábra Az OW rendszer vázlatos felépítése

Mindkét berendezés saját készítésű vezérlő szoftverekkel működik. A fotoakusztikus berendezés esetén a szoftver a léptetőmotor által adott hullámhossz és a lock-in erősítő csatornájának kiolvasásával digitálisan rögzíti a mért spektrumot; az OW berendezés szoftvere lehetővé teszi az erősítő jelének (a mért jelnek) tetszőleges számú kiolvasását és meghatározza a szükséges statisztikai paramétereket.

## 3. Fotoakusztikus vizsgálatok

### 3.1. Zsíros tejpör oxidációs folyamatainak vizsgálata

Tejporokban a lipid oxidációs folyamatokat, amelyek a minőség romlását okozzák számos tényező segíti, illetve gátolja. Az oxidáció fokmérője a peroxidérték.

A vízáktivitás pl. hatással van az auto-oxidációs folyamatokra. Az alacsony vízáktivitás (kisebb mint 0.1) növeli a peroxidértéket. Az irodalomban található eredmények másrésről azt erősítik meg, hogy 25 °C-on a zsíros tejpör minősége, 0.11 és 0.23 közötti vízáktivitás értékekre, változatlan marad. Nagyobb vízáktivitás és hőmérséklet hatására a minőség jelentősen romlik.

A nem-enzimatikus barnulások a fény és hőhatásoknak köszönhetően kapcsolatban vannak a tejpör hidroximetil furfural tartalmával, amit általában kémiai módszerekkel határoznak meg. Mivel az oxidációs folyamatok során a peroxidértékek megváltoznak, ezért ennek meghatározása információt szolgáltat a tejpörökben végbement oxidáció mértékéről.

A használatos kémiai módszerek nemcsak időigényesek, hanem toxikus és környezetkárosító vegyszerek alkalmazását is igénylik (IDF Standard 74A:1991).

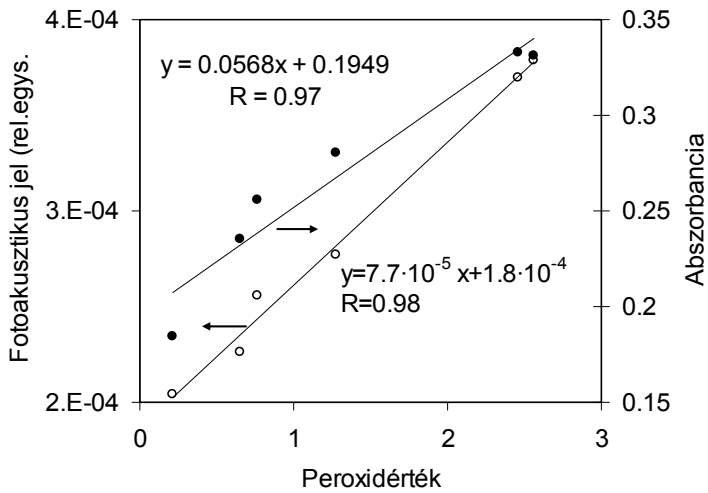
Fontos következménye az előzőeknek, hogy az oxidációs folyamatok eredményeként a tejpörök színe megváltozik. Ezért tűnik kézenfekvőnek olyan spektroszkópiai módszerek alkalmazása, mint pl. a fotoakusztikus módszer, amelyek közvetlenül porokon is alkalmazhatók.

Vizsgálatainkban zsíros tejpört alkalmaztunk (összetétel: 27 % zsír, 26% fehérje, 5% víz, 36 % laktóz, 6 % hamu). A pro szemcseátmérője 10-40 µm.

Az oxidációs folyamatokat UV sugárzás és hőkezelés alkalmazásával gyorsítottuk fel, azaz egy 40 W-os higanylámpával (ST913/41) sugároztuk be a mintákat különböző 6 órán át majd 50 °C-os előmelegített kemencébe raktuk a mintákat 1, 6, 10, 31 és 34 napra.

Az így kezelt mintáknak egyrészt, a standard eljárásnak megfelelően, kémiai módszerrel meghatároztuk a peroxidértékét, másrészt felvettük e minták fotoakusztikus spektrumát 200 és 500 nm között és diffúz reflexiós spektrumát is.

A spektroszkópai eredmények azt mutatták, hogy a mért spektrumok két karakterisztikus sávot tartalmaznak. Egyet 290 nm-nél az aromás aminosavaknak köszönhetően, egy másik széles elterülő sávot pedig 330-340 nm-nél. Ez utóbbi egyértelműen az UV sugárzásnak és a hőkezelésnek tulajdonítható.



3. ábra

Ezt követően 335 nm-nél ábrázoltuk a mért jeleket a kémiai módszerrel meghatározott peroxidértékek függvényében. A kapott függvénykapcsolat lineáris és a spektroszkópai módszerek szoros korrelációt mutatnak a hagyományos kémiai módszerrel kapott eredményekkel. (3. ábra). Az ábrán a mérési pontok 335 nm-nél mutatják a fotoakusztikus jelet (o) és a reflexióból meghatározott abszorbanciát (●). A nyilak pedig a megfelelő tengelyeket jelenti.

Az UV sugárzás és a hőkezelés kombinált hatása a zsíros tejporban az oxidáció mellett további kémiai folyamatokat is gerjeszt. Egyrészt tény, hogy a fény, hő hatás és víztartalom a tárolás során nem-enzimatikus barnulási folyamatokat eredményez. Másrészt a zsíros tejpor zsírsavjai oxidálódnak és instabil hidroperoxidokat képeznek, majd ezek sokféle karbonilt tartalmazó terméké bomlanak le, mint pl. telített és telítetlen eldehidekre és ketonokra. A 320 és 360 nm-es tartományban megfigyelt abszorpciós sáv különböző aminó komponensek aldehidekkel történő reakciójának köszönhető. E legutóbbi állítást a mintákon végzett szilárdfázisú mikroextrakciós technika (SPME) is megerősítette, hiszen a bomlás során keletkezett illékony aldehideket (pentanal, hexanal, oktanal, heptanal) sikerült kimutatnunk.

A hivatalos módszerrel mért peroxidértékek és a direkt módszerekkel (fotoakusztika, diffúz reflexió) kapott eredmények közötti korreláció megerősítik, hogy a zsíros tejpor oxidációja és a barnulási folyamatok között kölcsönös kapcsolat van.

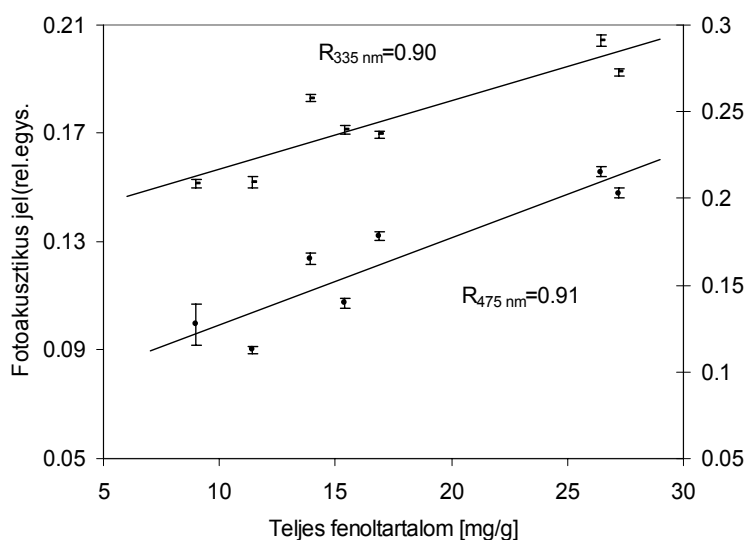
Ez utóbbi tény lehetővé teszi, a fotoakusztikus módszer révén, hogy közvetlen, gyors, roncsolásmentes módon határozzuk meg tejporban az oxidáció mértékét.

### 3.2. Köles fenoltartalmának meghatározása

A köles [*Sorghum bicolor* (L.) Moench], amelyből 57 Mt-át termeltek például 2000-ben, használatos állati takarmányként és humán táplálkozásra is (főként Ázsia és Afrika). Az afrikai országokban az éves fogyasztás átlagosan 200 kg per fő. A kölesszemek változó mennyiségű fenolkoncentrációval rendelkeznek, ami mind az állati takarmányok, mind a humán táplálkozás tápértékének minőségét befolyásolja. A fenolok fehérjével történő kölcsönhatása során gátolhatják az emésztést és ronthatják az ízletességet. A tanninok például, mint a nagymolekulájú fenolok speciális csoportjai szénhidrátokkal és fehérjével nem emészthető komplexeket képeznek.

Az előzőek miatt lényeges és fontos a megfelelő fajták kiválasztása, amely a magok kémiai összetételének alapján történik. A fenoltartalom meghatározására jónéhány módszer ismert, ezek azonban meglehetősen időigényesek, bonyolult elválasztási technikákat igényelnek és drágák is. Ezért új módszerként kínálkozott a fotoakusztikus spektroszkópia, amely gyors roncsolásmentes vizsgálatokat tesz lehetővé. A mért eredményeket a Folin-Ciocalteu módszer egy módosított alkalmazásával hasonlítottuk össze.

Összesen hét, Burkina Faso-ból származó, vörösköles örlemény mintát vizsgáltunk. Mérve a minták fotoakusztikus spektrumát 250nm és 550 nm között, két jellemző abszorpciós



4. ábra

Az  $R=0.9$  korrelációs koefficiens részben annak is következménye, hogy a különböző fajták örölhetősége eltérő. Nem állt rendelkezésünkre olyan golyós malom, amellyel az egyes minták homogenizálását meg tudtuk volna oldani. Az egyes mérések standard hibái jól mutatják az azonos mintákon belüli ismételhetőséget.

A fotoakusztikus módszerrel és a hagyományos kémiai módszerrel kapott eredmények közötti egyezés 6 mg/g koncentrációig kielégítő. A fentiekben leírt fotoakusztikus berendezés jelen állapotában, a mérési eredményekből és a mért standard deviációkból számíthatóan, 2.25 mg/g koncentrációig alkalmas fenolok meghatározására. Ez a detektálási limit intenzív fényforrás (lézer) alkalmazásával tovább javítható. Mindemellett a módszer legnagyobb előnye, hogy közvetlenül, mintaelőkészítés nélkül, végezhető mérések és ez jelentősen lerövidíti a szükséges vizsgálatok időtartamát.

### 3.3. "Sunset Yellow" (E110) élelmiszerszínezék meghatározása pezsgőtablettában

Az íz, az állag és a tápérték mellett a szín az egyike a legfontosabb élelmiszer tulajdonságoknak. Az élelmiszerek vonzó színei általában növelik az eladhatóságot, ezért a természetes színezékek rendkívül fontos adalékanyagok.

A szintetikus színezőanyagokat összehasonlítva a természetes színezékekkel, azok számos előnyös tulajdonsága állapítható meg, mint pl. fokozottabb színezőkészség, jobb hő, fény és kémiai stabilitás, állandó minőség, stb. Jóllehet mintegy 10 000 féle színezőanyag áll rendelkezésre ezekből mindösszesen 16 olyan van, amelyet az Egyesült Államok és az EU is javasol élelmiszerszínezékként.

sávot kaptunk. Az első 285 nm-nél található, köszönhetően a kölesben található aromás aminosavaknak; míg a második 335 nm környékén, köszönhetően a mintákban lévő flavonoknak és fenoloknak, amelyek a köles héjában találhatóak.

A 335 nm-nél mért fotoakusztikus jelet ábrázolva a hagyományos kémiai módszerrel (Folin Ciocalteu) kapott phenoltartalom függvényében az eredmények lineáris kapcsolatot és viszonylag szoros korrelációt mutatnak (4. ábra).

Az 50-es években észlelték először, hogy a színezékek ártalmasak lehetnek az emberi szervezetre. Néhányról, illetve anyagcsere származékáról azt feltételezik, hogy rákot okozhatnak, mások toxikusak, ha túlzott mértékű a fogyasztásuk.

A sunset yellow (E110) az egyik leggyakrabban használt szintetikus színezék, amely narancsszínű kölcsönöz az élelmiszereknek. Nagyfokú színezőképeségének köszönhetően csak kis mennyiségben használják. A tipikus felhasználási mennyisége folyadék és szilárd formában rendszerint 6 µg/ml, illetve kevesebb, mint 50 mg/kg. Az E110 maximálisan megengedett mennyisége élelmiszerekben 50 mg/kg. Az FDA (Food and Drug Administration) egy 60 kg-os ember számára naponta maximum 225 mg felvételét ajánlja.

Számos módszer létezik és használatos az élelmiszerszínezékek vizsgálatára. Az egyik legjelentősebb csoportot a kromatográfiai eljárások jelentik (HPLC, oszlop, vékonyréteg). Annak ellenére, hogy minden színezék karakterisztikus abszorbanciával rendelkezik a látható spektrumtartományban a hagyományos spektrofotometria kemometria nélkül csak olyan esetben alkalmazható, ha csak egyetlen színezék van jelen, ráadásul még a mintának egy tiszta átlátszó folyadéknak kell lennie. Mivel ez viszonylag ritkán fordul elő élelmiszerek vizsgálatánál, ezért extrakciós és szeparációs eljárásokat kell alkalmazni.

Az alábbiakban a fotoakusztikus módszer alkalmazásának lehetőségét mutatjuk be közvetlenül szilárd mintán (pezsgőtablettán), mindenféle mintaelőkészítés nélkül. Az így kapott eredményeket összevetjük más módszerekkel kapott eredményekkel is.

A vizsgálatok tárgya a kereskedelmi forgalomban kapható Vitalab (PEZ HAAS Kft.) pezsgőtabletta volt. A gyártó által rendelkezésünkre bocsátott receptúra szerint a tabletták 10 különböző komponensből áll, köztük az E110-ból, amelynek koncentrációja 0.07% g/g.

A kalibrációs egyeneshez a mintákat oly módon készítettük el, hogy az E110 kivételével minden komponens a megadott mennyiségben összekevertünk, majd ehhez adtuk hozzá különböző koncentrációban a színezőanyagot (táblázat).

| Mintakód | Az E110 mennyisége<br>20 g porban (g) | E110 koncentrációja<br>(%) |
|----------|---------------------------------------|----------------------------|
| S0       | 0                                     | 0.00                       |
| S1       | 6                                     | 0.03                       |
| S2       | 10                                    | 0.05                       |
| S3       | 14                                    | 0.07                       |
| S4       | 20                                    | 0.10                       |
| S5       | 26                                    | 0.13                       |

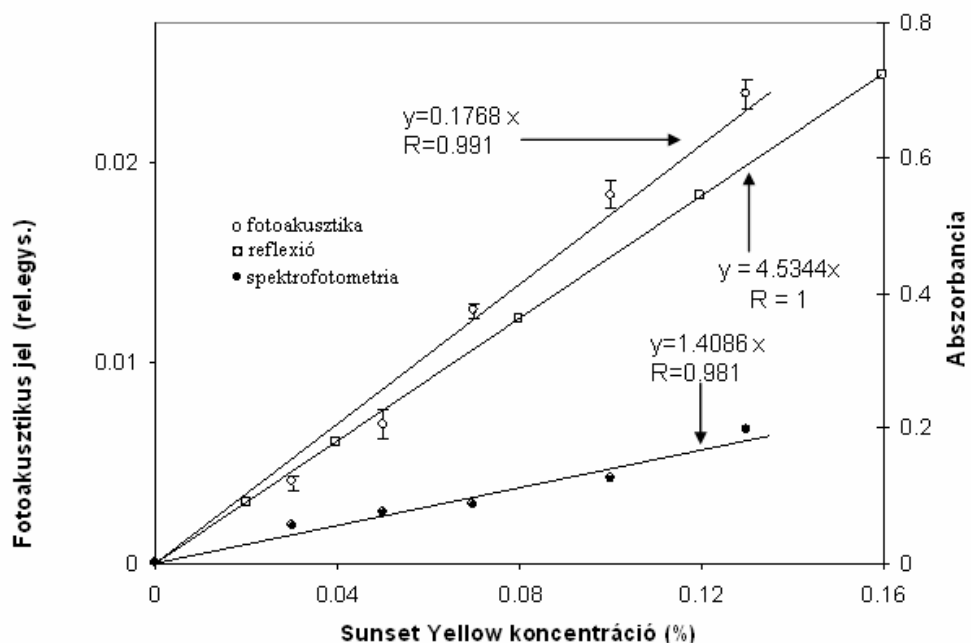
Az így kapott mintákat a hagyományos spektrofotometriás módszerrel, diffúz reflexiós módszerrel és fotoakusztikus módszerrel vizsgáltuk.

A sunset yellow optikai spektruma 482 nm-nél mutat maximális abszorpciót, ezért a kalibrációhoz készített minták vizes oldatát ezen a hullámhosszon mértük (Cecil CE 1020 S).

A diffúz reflexiós spektrumokat 350 és 750 nm között vettük fel (CARY 5E UV-VIS-NIR). A kapott reflectanciákat az  $A = \log R^{-1}$ -nek megfelelően abszorbanciává konvertáltuk.

A fotoakusztikus méréseket 400 és 600 nm között végeztük el és analitikai hullámhosszként a 480 nm-es hullámhosszt használtuk.

A kalibrációs egyenesek elkészítéséhez mindhárom esetben az E110-t nem tartalmazó minta (S0) jelét kivontuk az S1, ...,S5 mintákon mért jelekből. A kapott kalibrációs egyeneseket az alábbi ábra mutatja (7. ábra):



7. ábra

A 7. ábra

kalibrációs egyeneseit felhasználva véletlenszerűen kiválasztottunk 5-t a kereskedelmi forgalomban kapható tabletták közül és a fenti három módszer mindegyikével meghatároztuk az E110 koncentrációkat. A kapott eredményeket az alábbi táblázat mutatja.

| Tabletták | A sunset yellow koncentrációja a pezsgőtablettákban (%) |              |                   |
|-----------|---|--------------|-------------------|
|           | Fotoakusztika   | Reflexió     | Spektrofotometria |
| 1.        | 0.071±0.0031  | 0.069±0.0034 | 0.069±0.0014      |
| 2.        | 0.069±0.0029  | 0.068±0.0033 | 0.071±0.0018      |
| 3.        | 0.072±0.0033  | 0.070±0.0034 | 0.067±0.0028      |
| 4.        | 0.068±0.0029  | 0.069±0.0034 | 0.070±0.0029      |
| 5.        | 0.069±0.0031  | 0.071±0.0035 | 0.068±0.0017      |

A kapott eredmények egyértelműen mutatják a fotoakusztikus módszer versenyképességét ezen a területen. Nem igényel különösebb minta-előkészítést, közvetlenül alkalmazható olyan minták esetében is, amikor már pl. a hagyományos spektrofotometria nem. Mindezek mellett, tekintettel arra, hogy a mérések nem vizes oldatban történnek, nem kell számolni a jel pH függésétől sem. A diffúz reflexióval szembeni előny az egyszerűbb kivitelezhetőség.

### 3.4. Tejpor víztartalmának meghatározása

A tej feldolgozása során előállított tejpor nedvességtartalma kb. 3%, de ez az érték a tárolás során felvett nedvességtartalom miatt növekszik. Ezért szükséges a termék nedvességtartalmának folyamatos monitoringja.

A nedvességtartalom mérésére leggyakrabban alkalmazott spektrofotometriás módszer a diffúz reflexió, amely az infravörös spektrumtartományban jó eredményeket szolgáltat a minták széles tartományára. Az infravörös tartományban található széles abszorpciós sávok felharmonikusai bizonyos kötések (-CH, -OH, -NH) alaprezgéseinek, vagy kombinációs sávok, köszönhetően különböző funkcionális csoportok rezgéseinek. A nem kötött, szabad hidroxil csoport alaprezgése 2.7-2.9  $\mu\text{m}$  között található, amelynek az első harmonikusa 1.4  $\mu\text{m}$ -nél található, míg 1.9  $\mu\text{m}$ -nél egy nagyon erős kombinációs sáv található.

A kötött hidroxil csoport első harmonikusa és a kombinációs sávja pedig 1.4  $\mu\text{m}$ -nél illetve 2.2  $\mu\text{m}$ -nél található. Ezek alapján lehetséges a szabad, a kötött víz vagy mindkettő meghatározása 1.9, 2.2 és 1.4  $\mu\text{m}$  -nél.

Az alábbiakban soványtejporon végzett méréseinket mutatjuk be, amelyet az infravörös spektrumtartományban végeztünk el 1.95  $\mu\text{m}$  hullámhosszon.

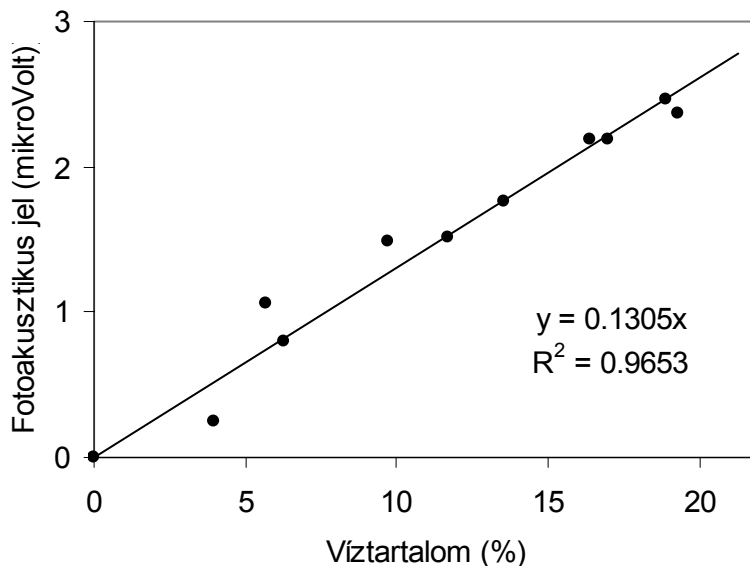
A mintaelőkészítés oly módon történt, hogy a mintákat különböző ideig közel telített vízgőzt tartalmazó térbe helyeztük. Ennek eredményeként eltérő víztartalmú mintákat kaptunk.

Közvetlenül a mintatérből kivéve a mintákat mértük az IR spektrumokat, majd ezt követően az IDF (International Dairy Federation) standardnak megfelelően a nedvességtartalmakat. A standard 1 órás szárítást ír elő ventilátoros kemencében 102°C-on, majd a súlyvesztéséből százalékosan számolható a víztartalom.

Esetünkben a tejporok nedvességtartalma sorrendben az alábbiak adódott:

A gőztérben nemlévő minta nedvességtartalma: 3,98 %

A gőztérben tartott minták víztartalma: 5.69, 6.3, 9.7, 11.7, 13.56, 16.36, 17.01, 18.9, 19.28 %.



8. ábra

A 8. ábrán ábrázoltuk a kiszáritott minta jeléhez képest a nedvességtartalmakat, azaz a kiszáritott minta jelét kivontuk a mindegyes mintán mért jelből. Az így kapott értékek lineáris ( $R = 0.98$ ) viselkedést mutatnak a víztartalom függvényében. Sajnos a kapott egyenes



meredeksége elég kicsi, ez annak tulajdonítható, hogy a Xe teljesítménye ebben a tartományban nagyon kicsi, márpedig a mért jel lineáris kapcsolatban van a mintára érkező fényintenzitással. Megfelelően nagy intenzitás esetén ez a meredekség jelentősen növelhető volna. Mindezek alapján a fotoakusztikus módszerrel történő víztartalom meghatározás versenyképes lehet, figyelembe véve az egyszerűségét, közvetlen alkalmazhatóság, roncsolásmentességét, az egyéb alkalmazott technikákkal szemben.

## 4. Optothermal Window alkalmazások

### 4.1. Vörösborkok összpolidenol tartalmának meghatározása

A borkban lévő polifenolos vegyületek nemcsak a borkok színét, ízét és aromáját befolyásolják, hanem antioxidáns hatást is mutatnak. Számos közlemény foglalkozik a borkban található polifenolok kedvező élettani hatásaival. A megnövelt napi polifenol bevitel csökkenti mind a koronáriás, mind pedig a rosszindulatú daganatos megbetegedések kialakulásának kockázatát. A borkban lévő polifenolok mennyisége és összetétele jelentősen függ a szőlő fajtájától, a bor kezelésétől és a bor érése során végbemenő kémiai folyamatoktól. A vörösborkok összpolidenol tartalma 1-3 g/L közötti, amely duplája a rose borkokénak és megközelítőleg egy nagyságrenddel nagyobb a fehérborkokénál. A polifenol összetételt a must erjedéséhez használt fájlesztő is befolyásolhatja. Ugyancsak befolyásolják a polifenolok összetételét és mennyiségét a bor által a hordó faanyagából kioldott polifenolos vegyületek.

Borkok polifenol tartalmának meghatározására szolgáló módszerek két nagy csoportba oszthatók: egyik a galluszsav egyenértékben kifejezett összpolidenol tartalom meghatározására szolgáló Folin-Ciocalteu kolorimetriás módszer (750 nm-nél mérve az abszorbanciát), amely a jelenleg elfogadott hivatalos módszer. A másik csoportját a polifenol tartalom meghatározásnak a HPLC-s módszerek jelentik. Ez utóbbi módszer az egyes polifenolos vegyületek külön-külön történő meghatározását teszi lehetővé.

Vörösborkok nagy polifenol tartalma csak a borkok megfelelő hígításával határozható meg a Folin-Ciocalteu kolorimetriás módszerrel. A fototermikus módszerek, mint például, az optothermal window módszer alkalmas olyan minták közvetlen mérésére, amelyeknek nagy az abszorbanciája, zavarosak, vagy akár teljesen átlátszatlanok.

Ez utóbbi szempontból érdekesnek tűnt összehasonlítani az optothermal window módszert a Folin-Ciocalteu kolorimetriás módszerrel a borkok közvetlen, hígítás nélküli összpolidenol tartalmának meghatározására.

Ebből a célból 6 vörösbork és 2 fehérbork polifenol tartalmát határoztuk meg a hivatalos Folin-Ciocalteu, valamint az OW módszerrel.

A vizsgálatokhoz analitikai tisztaságú vízmentes nátrium karbonátot (Riedel-De Haen), Folin-Chiocateu reagenst (Merck) és 99% tisztaságú galluszsavat (3,4,5-trihidroxibenzoésav) (Sigma) használtunk. Az oldatok készítéséhez a nagy tisztaságú vizet ( $18 \text{ M}\Omega\text{cm}^{-1}$ ) MilliQ-RG (Millipore) típusú víztisztítóval állítottuk elő. A mintaelőkészítésnél alkalmazott 20 m/V% nátrium-karbonát oldatot és a kalibrációhoz használt oldatokat szilárd nátrium-karbonát illetve a szilárd galluszsav megfelelő arányú nagy tisztaságú vízzel történő hígításával állítottuk elő.

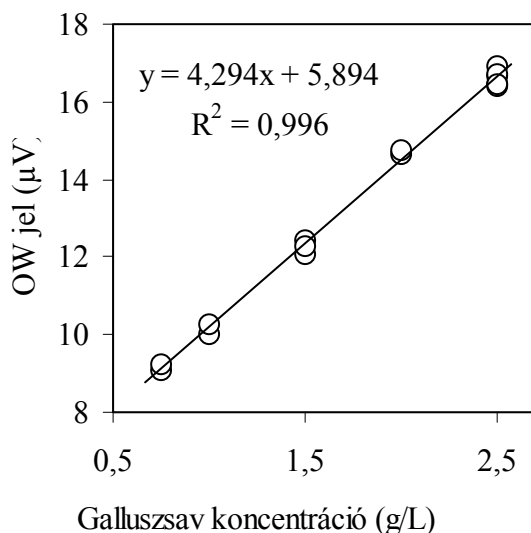
A mérőberendezések kalibrációjához használt oldatok készítésekor a 0,05-2,5 g/L koncentrációjú galluszsav oldat 0,1 mL-réhez 5 mL nagy tisztaságú vizet, 0,5 mL Folin-Chiocateu reagenst és 2 mL 20m/V%-os nátrium-karbonát oldatot pipettáztunk majd az oldat térfogatát 10 mL térfogatúra egészítettük ki. Az így kapott oldatokat egy órai állás után elemeztük spektrofotometriás illetve fototermikus módszerrel.

A vizsgálat alapjául szolgáló mintákat egyéni gazdáktól illetve bortermelőktől szereztük be. A minta előkészítés során a fototermikus módszerrel történő meghatározásnál az eredeti borminta, míg a spektrofotometriás vizsgálatnál az előzőleg nagy tisztaságú vízzel ötszörösére hígított bormintát használtunk. A mintaoldatokat a kalibráló oldatokhoz hasonlóan készítettük el azzal az eltéréssel, hogy galluszsav oldat helyett, 0,1 mL térfogatú, bormintát, illetve ötszörösére hígított bormintát használtunk.

A borminták abszorbanciájának meghatározására CE 1020 S (Cecil) spektrofotométert használtunk. A spektrális sáv szélesség 8 nm, a kuvetta élhosszúsága 10 mm volt. A 2.2 bekezdésben leírt módszerrel előkészített kalibráló és mintaoldatok abszorbanciáját 750 nm hullámhosszon galluszsavat nem tartalmazó háttérminta oldattal szemben mértük.

A Folin-Ciocalteu módszer esetén a mérés 750 nm-en történik, ahol az abszorbancia értéke maximális. Az OW mérésekhez nem állt rendelkezésünkre olyan lézer, amely ezen a hullámhosszon működött volna, ezért a He-Ne lézer 632.8 nm-es vonalát használtuk, amelyen az abszorbancia a maximumnak kb. 90 %-a.

A 9. ábrán az OW módszerrel mért kalibrációs görbe látható, amely a 0.5, 0.75, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 g/L koncentrációjú galluszsavat tartalmazó standardok OW mérésével történt 6.5 Hz szaggatási frekvencián. A mért OW jel és a koncentráció között lineáris kapcsolat van. A kapott egyenes egyenlete  $Ow_{jel}(\mu V) = 4.294 c(g/L) + 5.894$  és  $R^2 = 0.996$ , ahol  $c$  a koncentráció. Az ábra egyben a az OW módszer előnyét is mutatja a hagyományos spektrofotometriás módszerrel szemben. 0.5 g/L koncentráció fölött ugyanis a reakciót követően az oldat



9. ábra

átlátszatlan lesz és közvetlenül spektrofotometriásan nem mérhető, hiszen az abszorbancia már nem lesz lineáris a koncentrációval. Ezért szükséges a minták hígítása.

Következő lépésként 6 vörösbor és 2 fehérbor polifenol tartalmát határoztuk meg egyrészt a standard módszernek megfelelően spektrofotometriásan, másrészt hígítás nélkül, alkalmazva a Folin-Ciocalteu színreakciót, OW módszerrel. A hígítás nélküli mintákon mért OW jelből, felhasználva a 9. ábra kalibrációs egyenesét, közvetlenül meghatározható a borok összpolicenol tartalma.

A kapott eredményeket az alábbi táblázat tartalmazza. Jól látható, hogy a vörösborok

polifenol tartalma megfelel az irodalomban található értékeknek, azaz 1-3 g/L között van. Spektrofotometriásan mérve, a fehérborokra kapott polifenol értékek szintén megerősítik az irodalomban található értékeket. Jelentős különbségek figyelhetők meg azonban a nagyobb cukortartalmú vörösbor (Dankó-Bócsa) és az édes fehérborok között a két módszerrel mért polifenol tartalomban. A nagy cukortartalmú borokat hígítás nélkül elemző fototermikus módszernél a cukrok zavaró hatása nagyobb összpolicenol koncentrációt eredményez, ezért különböző cukorkoncentrációk esetén eltérő korrekciókat kell alkalmazni.

A fototermikus módszerhez intenzívebb fényforrást alkalmazva jelentősen növelhető a jel/zaj, és így a detektálási határ csökkenthető, azaz a módszer jól kiegészítheti a spektrofotometriás méréseket.

| A bor típusa                 | Polifenolkoncentráció [g/L] |      | Eltérés % |
|------------------------------|-----------------------------|------|-----------|
|                              | SF                          | OW   |           |
| Egri bikavér                 | 1,13                        | 1,16 | -2,2      |
| Kékoportó                    | 1,45                        | 1,46 | -0,9      |
| Kékfrankos                   | 1,03                        | 1,04 | -0,8      |
| Pinot Noir                   | 2,07                        | 2,16 | -4,4      |
| Dél-dunántúli kékfrankos     | 1,29                        | 1,31 | -1,1      |
| Dankó-Bócsa, édes vörösbor   | 1,00                        | 1,07 | -6,5      |
| 5-puttonyos aszú             | 0,67                        | 0,95 | -29,9     |
| Édes szamorodni Tolcsva 2001 | 0,52                        | 0,86 | -40,4     |

#### 4.2. Sütőolaj szabad zsírsavtartalmának meghatározása

A zsírokat alkotó zsírsavak, táplálkozástudományi szempontból is, az egyik legjelentősebb energiaforrást jelentik az élő szervezetek számára. Leggyakrabban észterek formájában találhatók (pl. trigliceridek), szabad formában elsősorban enzimatis bomlás, hidrolízis, hődegradáció termékeként jönnek létre. A zsírsavészterek degradációja során keletkezett szabad zsírsavak az élelmiszerek minőségét jelentősen rontják, megváltoztatva azok fizikai sajátságait, kémiai összetételét és érzékszervi tulajdonságait.

A szabad zsírsavtartalom meghatározható többek között, titrálós, spektrofotometriás, elválasztástechnikai, enzimatis és immunológiai módszerekkel. A spektrofotometriás módszerek közül az egyik legelterjedtebb a réz-szappan módszer, melynek lényege, hogy a szabad zsírsavak réz ionokkal apoláros oldószerben kék színnel oldódó szappant képeznek. A keletkezett kék szín intenzitása arányos a szabad zsírsavtartalommal. A réz-szappan módszernek többféle változata, módosítása is ismert.

Munkánk során mi is a réz-szappan módszert alkalmaztuk szabad zsírsavak meghatározására. Megvizsgáltuk az OW módszer alkalmazhatóságát, összehasonlítva a hagyományos spektrofotometriai módszerrel.

A vizsgálatokhoz (Fluka, Merck, Acros Organics gyártmányú, >98% tisztaságú), kapron- ( $C_6H_{12}O_2$ ), kapril- ( $C_8H_{16}O_2$ ), pelargon- ( $C_9H_{18}O_2$ ), laurin- ( $C_{12}H_{24}O_2$ ), sztearin- ( $C_{18}H_{36}O_2$ ), kaprolein- ( $C_{10}H_{18}O_2$ ), undecén- ( $C_{11}H_{22}O_2$ ), olaj- ( $C_{17}H_{34}O_2$ ) és linolsavat ( $C_{18}H_{34}O_2$ ), analitikai tisztaságú ciklohexánt (Merck), réz(II)-acetát monohidrátot (Merck) és piridint (Merck) használtunk

##### *Zsírsav oldatok készítése*

100  $\mu$ mol/l-es zsírsavoldat: a zsírsavakból rendre a számított mennyiségeket analitikai mérleggel 10 ml-es mérőlombikokba mértük, majd ciklohexánban oldottuk és a teljes feloldódásuk után a lombikokat ciklohexánnal jelre töltöttük.

A kalibráláshoz használt 2, 4, 8, 12, 16, 20, 30, 40  $\mu$ mol/ml koncentrációjú zsírsavoldatokat a 100  $\mu$ mol/ml koncentrációjú törzsoldatok ciklohexánnal történő megfelelő arányú hígításával állítottuk elő. Az előző oldatkészítési folyamatot minden egyes zsírsav estében elvégeztük (összesen 72 oldat).

##### *5 m/V %-os réz-acetát oldat (rézreagens) készítése:*

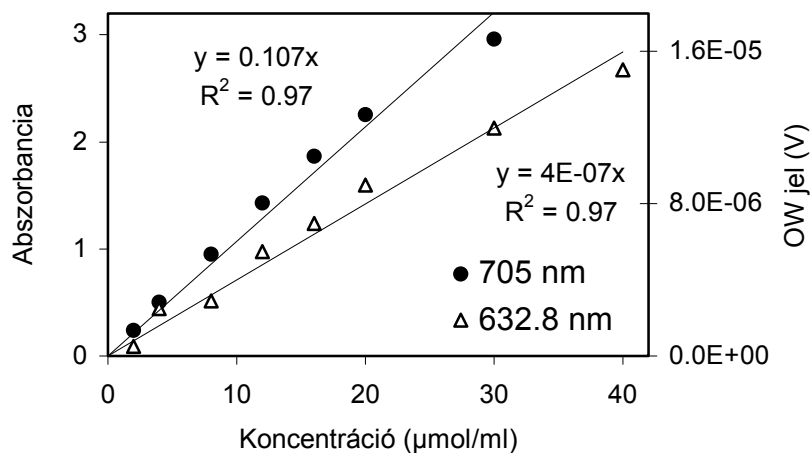
5,5 g réz-acetát monohidrátot feloldottunk 80 ml desztillált vízben. Az oldat pH-ját piridinnel 6,1-re állítottuk be, majd térfogatát desztillált vízzel 100 ml-re egészítettük ki.

*Kalibráció:* A 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20, 30, 40  $\mu\text{mol/ml}$  koncentrációjú kalibráló zsírsavoldatok 10-10 ml-éhez 2-2 ml rézreagenst adtunk, majd vortex segítségével 30 másodpercig intenzíven összeráztunk. A fázisok szétválása után a felső szerves fázisok abszorbanciáját mértük, a 8  $\mu\text{mol/ml}$  koncentrációjú olajsavoldatnál az 500 nm és 900 nm közötti hullámhossztartományban 2 nm-es lépésekben, a többi oldat esetén pedig az abszorbancia maximum 705 nm-es analitikai hullámhosszán. Az OW módszerhez a kalibráció ugyanezekből az oldatsorozatokból készült a He-Ne lézer 632,8 nm-es hullámhosszán mérve az OW jelet.

Valós minták készítéséhez kereskedelmi forgalomban kapható Vénusz étkezési olajat használtunk. Szabad zsírsavak képződésének előidézésére az olajokat elektromos fűtésű kemencében 250 °C-on különböző ideig (1, 2, 3, 4, 5, 6, h-t) hőkezeltük.

A előbbi módon kezelt olajok 2-2g-ját ciklohexánnal 10 ml térfogatra hígítottuk, majd a hígított olajmintákhoz hozzáadtunk 2 ml rézreagenst. A kapott oldatokat harminc másodpercig alaposan összeráztuk és a fázisok gyorsabb szétválása érdekében 2000-es fordulatszámom 2 percig centrifugáltuk. A két fázis szétválása után meghatároztuk a felső szerves fázis abszorbanciáját és OW jelét.

A fentiekben leírt módon elkészített oldatokból 705 nm-en megmértük az abszorbanciákat, illetve 632.8 nm-en az OW jelet. A 10. ábrán az így kapott kalibrációs egyenesek láthatók. A baloldali függőleges tengely a spektrofotométerrel mért abszorbanciákat, míg a jobboldali az OW jelet jelenti a vak (ciklohexán és réz-reagens) mintához viszonyítva. Az ábrán csak az olajsavra kapott kalibrációs egyenes látható, mert a kilenc oldatsorozatra kapott egyenesek áttekinthetlenné tették volna az ábrát és így a végeredményeket is csak az olajsavra vonatkoztatva adjuk meg.



10. ábra

A kétféle mérési módszer közös tulajdonsága, hogy a kapott eredmények alapján lineáris kapcsolat áll fenn a koncentráció-abszorbancia, illetve a koncentráció-OW jel között is.

A spektrofotometriás mérésekből látható, hogy a legmagasabb koncentrációjú oldat már nem volt mérhető a fent vázolt mérési körülmények között, a 16  $\mu\text{mol/ml}$  koncentráció esetén az abszorbancia már 2 körüli értéket vesz fel, amelynél a Beer-Lambert törvény érvényessége már erősen megkérdőjelezhető. Ugyanakkor az OW mérésekből az látható, hogy alacsonyabb koncentrációkon a mérések szórása viszonylag nagy, azaz kevésbé megbízhatók a mérési eredmények. Növekvő koncentrációval ez a helyzet javul. Lényegében

az látszik, hogy a spektrofotometriás és OW méréseknek van egy közös tartománya, ez alatt a spektrofotometriás mérések megbízhatóbbak, magasabb koncentrációk felé pedig az OW módszer alkalmasabb, hiszen a módszer dinamikus tartománya fölfelé sokkal nagyobb, mint a hagyományos módszernek. Az alábbi táblázatban megadjuk a különböző zsírsavakkal készített kalibrációs egyenesek meredekségeit, illetve a determinációs koefficienseket.

| Zsírsavak    | OW jel     |           | Abszorbancia |           |
|--------------|------------|-----------|--------------|-----------|
|              | Meredekség | R-négyzet | Meredekség   | R-négyzet |
| olajsav      | 0,107      | 0,976     | 4,00E-07     | 0,979     |
| pelargonsav  | 0,112      | 0,997     | 3,97E-07     | 0,974     |
| kaprilsav    | 0,111      | 0,999     | 4,06E-07     | 0,988     |
| kapronsav    | 0,089      | 0,996     | 4,01E-07     | 0,973     |
| undecénsav   | 0,105      | 0,985     | 4,04E-07     | 0,976     |
| kaproleinsav | 0,101      | 0,977     | 3,95E-07     | 0,972     |
| sztearinsav  | 0,103      | 0,983     | 3,89E-07     | 0,967     |
| laurinsav    | 0,103      | 0,985     | 3,90E-07     | 0,973     |
| linolsav     | 0,102      | 0,978     | 3,97E-07     | 0,986     |

A kapott kalibrációs egyenesek közel azonos meredeksége azt jelzi, hogy a módszer jó közelítéssel független a szabad zsírsavak típusaitól.

A következő táblázat a valós mintákon kapott eredményeket tartalmazza az olajsavra vonatkoztatva. A kereskedelmi forgalomban kapható Vénusz étkezési olajat 250 °C-on 1, 2, 3, 4, 5, 6 óra hosszan hőkezeltük. A hődegradáció során keletkezett szabad zsírsavtartalmat a fenti módon határoztuk meg, mind spektrofotometriásan, mind az OW módszert alkalmazva. A kapott abszorbancia értékekből és a mért OW jelből a 10. ábrán lévő megfelelő kalibrációs egyenesek felhasználásával meghatároztuk a szabad zsírsav tartalmakat. A kapott eredmények csak a magasabb szabad zsírsavtartalmak esetén tekinthetők egyezőnek. Ennek oka elsősorban az OW jel viszonylag gyenge érzékenysége az alacsony koncentrációknál.

| Módszerek                                      | Kezeletlen | 1 h  | 2 h  | 3 h  | 4 h  | 5 h  | 6 h  |
|--|------------|------|------|------|------|------|------|
| Spektrofotometriásan<br>( $\mu\text{mol/ml}$ ) | 0,33       | 0,90 | 1,38 | 2,09 | 2,97 | 3,22 | 4,37 |
| OW módszerrel<br>( $\mu\text{mol/ml}$ )        | 0,85       | 0,97 | 2,27 | 2,56 | 2,95 | 3,22 | 4,13 |

Végeredményként azt állapíthatjuk meg, hogy az OW módszer alkalmas zsírsavak meghatározására a fent leírt módon. Az alkalmazott berendezés esetén az alacsony koncentrációk mérése nagy bizonytalansággal valósítható csak meg. A nagyobb koncentrációk meghatározására viszont nagyobb dinamikus tartománya révén alkalmasabb, mint a spektrofotometriás módszer. A hagyományos és az OW módszer jól kiegészíti egymást, van közös tartományuk és kis koncentrációk esetén a hagyományos spektrofotometria, míg nagy koncentrációk esetén az OW ajánlható.

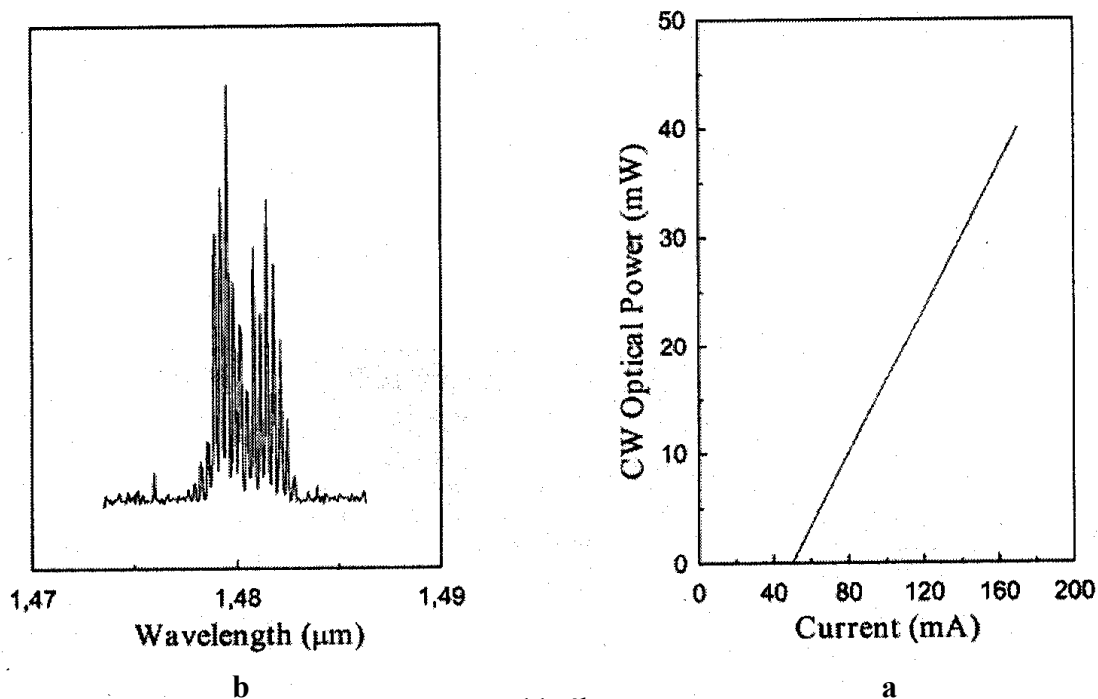
### 4.3. Méz víztartalmának meghatározása

A mézre vonatkozó irodalmi vizsgálatok azt mutatják, hogy a méz mikrobiológiai "szennyezettsége" szoros kapcsolatban áll a víztartalommal, vagy pontosabban fogalmazva a vízakktivitás értéke befolyásolja a mikrobiológiai összetevőket, amely viszont nem független a méz víztartalmától.

A méz víztartalmára vonatkozó vizsgálatok legegyszerűbben refraktometriásan végezhetőek el és a szabványok standard módszerként ezt is ajánlják. A NIR technikák kifejlődésével azonban találkozhatunk az ide vonatkozó szakirodalomban közvetlenül NIR és FTIR spektrofotometriás vizsgálatokat is.

A spektrofotometriás analitikai vizsgálatok a tejporoknál elmondott abszorpciós sávokat használják fel.

Kereskedelmi forgalomban kaphatók mármár olyan, viszonylag nagy teljesítményű diódlézerek, amelyek segítségével az OW módszer közvetlen, gyors és roncsolásmentes analitikai vizsgálatot tesz lehetővé. Ennek érdekében építettünk egy diódlézeres OW rendszert. A diódlézer emissziója látható 11/a ábrán, míg a 11/b ábra a lézer teljesítményét mutatja a lézer áramának függvényében. Az /a ábráról jól látható, hogy az emittált sugárzás 1478 és 1482 nm között van, míg a /b ábra azt jelzi, hogy 170 mA lézeráram mellett a lézer teljesítménye 40 mW az előzőekben említett hullámhossztartományban. Mivel a lézer stabilitása a hőmérséklet függvénye, ezért egy Peltier-elemmel szabályoztuk, illetve stabilizáltuk a lézer hőmérsékletét.

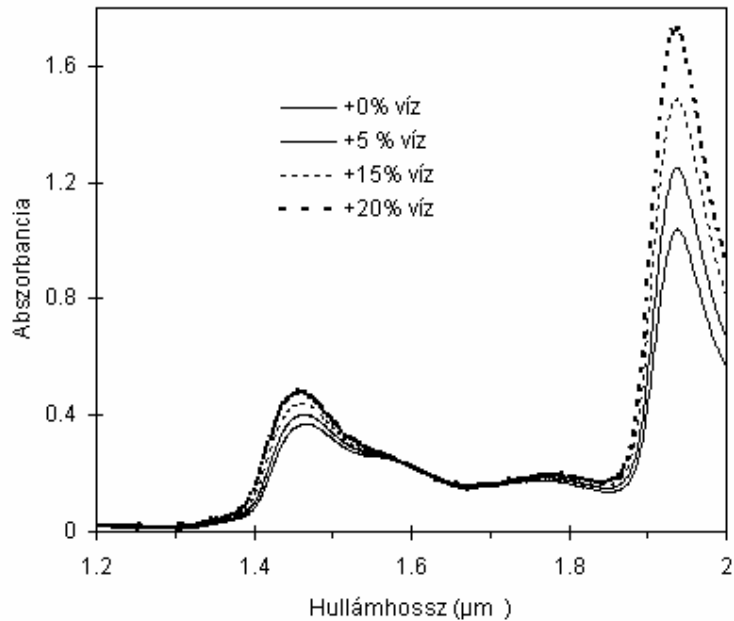


11. ábra

A méz víztartalmának meghatározásához termelőktől kapott akácmézet használtunk és a standard addíciós módszert alkalmaztuk.

Az eredetileg kapott mézhez nem adtunk vizet, majd rendre 5.1; 10.1; 15.2; 19.9; 25.2 és 30.0 g/g %-ban nagy tisztaságú vizet (18 MQcm) adtunk, amelyet MilliQ-RG (Millipore) típusú víztisztítóval állítottunk elő.

A fenti hullámhossz alkalmazásának jogosságát FTIR mérésekkel támasztottuk alá. A fenti minták közül néhánynak felvettük a NIR spektrumát a kérdéses tartományban (12. ábra).

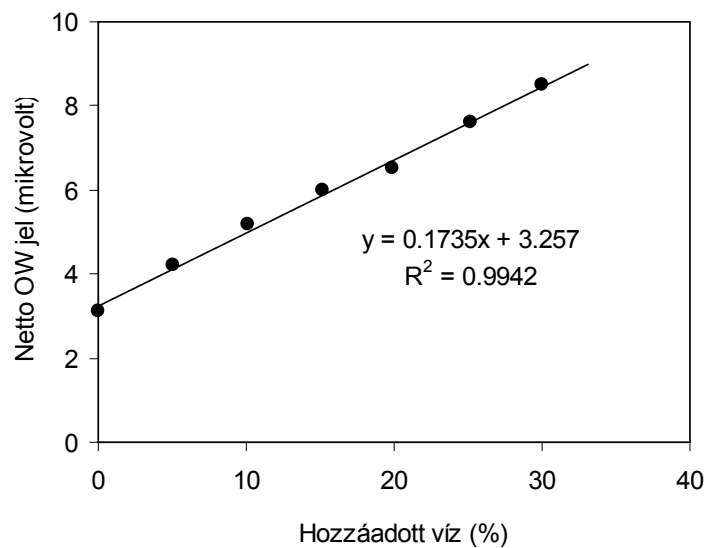


12. ábra

Az ábra jól mutatja a 3.4. fejezetben leírt abszorpciós sávokat. Az is jól látszik, hogy a szabad hidroxil gyök első harmonikusa 1.45 μm jóval gyengébb abszorbanciával rendelkezik, mint az 1.95 μm-nél lévő kombinációs sáv.

A fentiekben vázolt rendszerrel mértük a minták víztartalmát. Mivel a lézer emissziója kb. 30 nm-rel nagyobb mint az első harmonikushoz tartozó abszorpciós maximum, ezért a mért eredményeink dinamikus tartománya még egy kicsit kisebb, mint az FTIR méréseké.

A kapott eredményeket mutatja a 13. ábra. A netto OW jel azt jelenti, hogy a mért jelből kivontuk a háttérjelet, amelyet akkor mértünk, amikor a detektoron nem volt minta. Ennek nagysága 1 μm körüli érték.



13. ábra

A mért eredmények lineáris kapcsolatot mutatnak a hozzáadott víz mennyiségének függvényében. Az illesztett egyenes egyenletéből az eredeti méz víztartalmára 18.7 %



adódott, amely megfelel egyrészt annak az elvárásnak, hogy az akácméz víztartalma nem haladhatja meg a 20 %-ot, másrészt a javasolt szabványt alkalmazva a kapott víztartalom 19.1 %.

Összefoglalóan a méz Ow módszerrel történő meghatározásáról azt lehet elmondani, hogy a módszer kellően gyors, roncsolásmentes és kielégítő eredményt ad, összehasonlítva a standard eljárással. Az FTIR mérések azt mutatják, amennyiben 1.95  $\mu\text{m}$ -nél lenne működő diódalézer a mérések dinamikus tartománya jelentősen növelhető volna. Nem elhanyagolható szempont az sem, hogy egy ilyen célra alkalmazott célkészülék jelentősen csökkentené a berendezés árát. Nem kellene pl. lock-in erősítő, ha a diódalézer áramát moduláljuk, akkor nincs fényszaggató sem, azaz jelentősen egyszerűsödik a berendezés. A másik jelentős előny, hogy nem csak méz, hanem bármilyen kolloid rendszer víztartalma közvetlenül meghatározható lenne.

## 5. Kenőmájás adalékanyagának meghatározása szilárdfázisú mikroextrakciós módszerrel

A Pawliszyn és munkatársai által kifejlesztett szilárdfázisú mikroextrakciós (SPME) módszert széles körben használják illékony és félillékony szerves vegyületek elemzésére. Ez az egyszerű és oldószermentes módszer eredményesen alkalmazható gőztérből történő mintavételre, amelyekről az utóbbi években számos közlemény látott napvilágot. A módszer elve, hogy a 7-100 µm vastagságú polimer filmmel bevont kvarc SPME szálát a vizsgálandó minta gőzterébe visszük. A szálát borító polimer film és a gőztér közötti megoszlás következtében a mintavétel során a gőztér komponensei oldódnak és egyúttal feldúsulnak a filmbe. A gőztérből való mintavétel végeztével a szálát a gázkromatográf (GC) injektorába juttatva az injektor nagy hőmérsékletén (250-300°C) a megoszlási hányados nagy mértékű csökkenése következtében az oldott komponensek a szálát elhagyva a vivőgázzal a gázkromatográfiás oszlopra jutnak. Ezen egyszerű és oldószermentes mintavételi módszerrel a komponensek feldúsulása folytán az érzékenység nagy fokú növelése érhető el. Gázkromatográf-tömegspektrométer alkalmazása a megnövekedett érzékenység és az interferencia mentes elemzés következtében jelentős kimutatási határ csökkenést eredményez. Az SPME módszert a gőztér analízis számos területén alkalmazzák, többek között illékony szennyező anyagok élelmiszerekben és vizekben, gyógy- és fűszernövények, italok és élelmiszerek aroma komponenseinek vizsgálatára.

### 5.1. Kísérleti rész

#### 5.1.1 SPME és gázkromatográf-tömegspektrométer (GC-MS)

A vizsgálatokat 50/30µm vastagságú divinilbenzol/carboxen/polidimetilsziloxán (DVB/CX/PDMS) bevonatú SPME (Supelco) szállal végeztük. A szálát használat előtt a gyártó ajánlásának megfelelően 280°C-on 30 percig kondicionáltuk. Az alkalmazott mérési körülmények között a szál élettartama több, mint 100 injektálás volt.

Kísérleteinkhez GCQ (Finnigan) típusú analizátoron kívüli, ún. külső ionforrású ioncsapdás tömegspektrométerrel ellátott GC/MS-t használtunk.

#### 5.1.2 Mintaelőkészítés és mintavétel

A vizsgált kenőmájásból analitikai mérlegen (WA-210, Adam Equipment) 1g-ot 24cm<sup>3</sup>-es fiolába mértünk és hozzáadtunk 10cm<sup>3</sup> ionmentes vizet (MilliQ-RQ, Millipore). A fiolába mágneses keverőbabát helyeztünk, majd teflonos szeptummal ellátott csavaros zárókupakkal lezártuk. A fiola tartalmát fűthető mágneses keverő (Heidolph MR 3400) segítségével fűtöttük és kevertettük.

A kenőmájás gőzteréből történő mintavétel során az SPME tűvel a teflonos zárószeptumot átszűrve a polimer filmmel bevont SPME szálát, a kondenzált fázis állandó kevertetése mellett, 30 percre a lezárt fiola gőzterébe helyeztük. A mintavétel alatt a fűtőlap hőmérséklete 100°C, a kevertetés fordulatszáma 1100min<sup>-1</sup> volt

A kenőmájásban található adalékanyag mennyiségének meghatározásához rendre 0,08g, 0,12g és 0,16g adalékanyagot adtunk a kenőmájás 1g-jához és az előbbi mintaelőkészítési és mintavételi eljárást ezekkel az adalékolt mintákkal is elvégeztük.

## 5.2. Eredmények és értékelésük.

### 5.2.1 Adalékanyag illó alkotóinak azonosítása

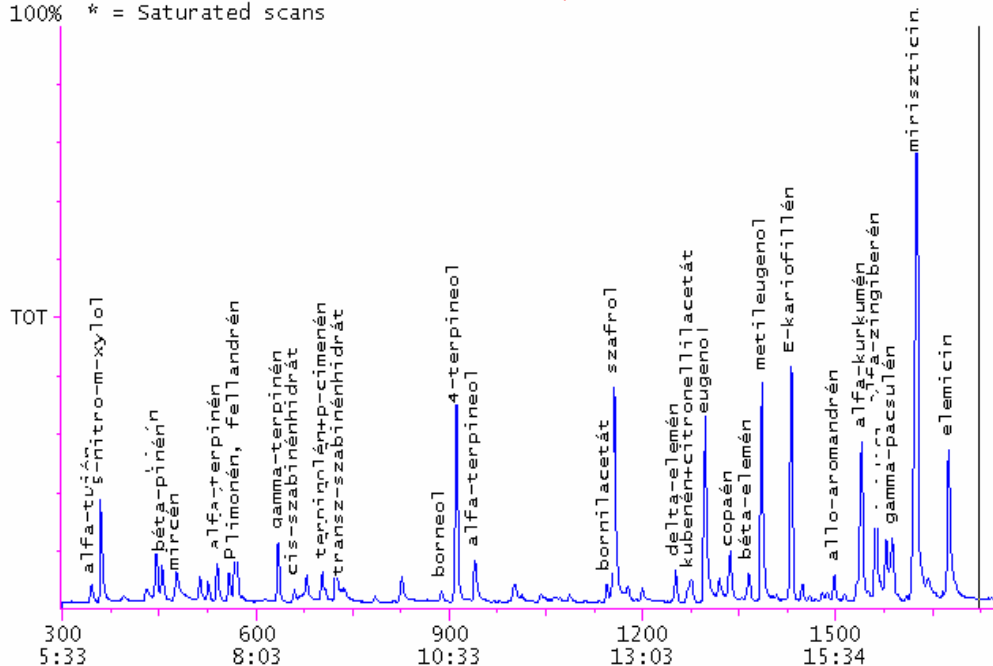
Az illó komponensek azonosítását a komponensek tömegspektruma és retenciós indexe alapján végeztük. A mérések során felvettük az illóolaj-komponensek tömegspektrumát. A retenciós indexek meghatározásához C<sub>8</sub>-C<sub>20</sub> homológ alkánsort tartalmazó standardot injektáltunk a GC-MS oszlopára. Az ismeretlen komponens lineáris retenciós indexét (LRI), annak, valamint a normál alkánok retenciós idejének ismeretében az 1. egyenlet alapján határoztuk meg.

$$LRI_x = 100 \cdot (t_{R,x} - t_{R,n}) / (t_{R,n+1} - t_{R,n}) + 100 \cdot n \quad (1)$$

ahol  $LRI_x$  az adott alkotó retenciós indexe,  $t_{R,x}$  az adott alkotó retenciós ideje,  $t_{R,n}$ : az adott alkotó eltt eluálódó n-alkán retenciós ideje,  $t_{R,n+1}$  az adott alkotó után eluálódó n-alkán retenciós ideje, n az adott alkotó előtt eluálódó n-alkán szénatom száma.

A vegyületek azonosítása a több mint 60 ezer komponenst tartalmazó NIST92 (National Institute of Standard and Technologie) tömegspektrum könyvtár, valamint irodalmi tömegspektrumok és retenciós index adatok felhasználásával történt.

Chromatogram Plot C:\...\2005\051123\05112316 11/29/05 16:27:45  
 Comment: 1gmaj+0,12gmi+10mlNTviz 24mLvial100oCSPME50/30umDVB/Cx/PDM30 min  
 Scan No: 1722 Retention Time: 17:25 RIC: 2079120 Mass Range: 50 - 400  
 Plotted: 298 to 1748 Range: 1 to 3825 100% = 142390406  
 100% \* = Saturated scans



14. ábra Kenőmájas gőztér alkotóinak SPME mintavétellel nyert összesion-kromatogramja az azonosított alkotók feltüntetésével

Kenőmájas gőztérében azonosított illó alkotók és retenciós idejük

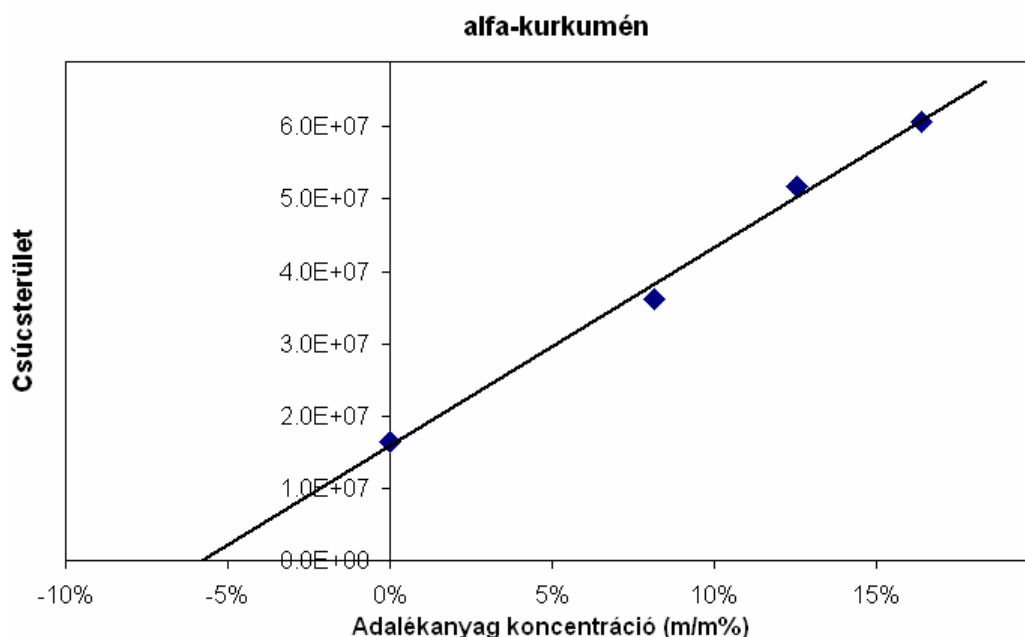
| Sorszám | Alkotó neve     | $t_{R,x}(min)$ |    |                   |       |
|---------|-----------------|----------------|----|-------------------|-------|
|         |                 |                | 19 | 4-terpineol       | 10,65 |
| 1       | alfa-tujén      | 5,92           | 20 | alfa-terpineol    | 10,88 |
| 2       | 5-nitro-m-xylol | 6,03           | 21 | Bornilacetát      | 12,58 |
| 3       | Szabinén        | 6,75           | 22 | Szafrol           | 12,68 |
| 4       | béta-pinén      | 6,83           | 23 | delta-elemén      | 13,48 |
| 5       | Mircén          | 7,03           | 24 | Citronellilacetát | 13,67 |
| 6       | alfa-fellandrén | 7,33           | 25 | Kubenéne          | 13,68 |

|    |                       |       |    |                 |       |
|----|-----------------------|-------|----|-----------------|-------|
| 7  | iso-szilvestrén       | 7,45  | 26 | Eugenol         | 13,87 |
| 8  | alfa-terpinén         | 7,55  | 27 | alfa-copaén     | 14,20 |
| 9  | para-cimén            | 7,72  | 28 | beta-elemén     | 14,43 |
| 10 | Limonén               | 7,78  | 29 | metil-eugenol   | 14,62 |
| 11 | Fellandrén            | 7,78  | 30 | E-kariofillén   | 14,98 |
| 12 | gamma-terpinén        | 8,33  | 31 | allo-aromandrén | 15,55 |
| 13 | cis-szabinénhidrát    | 8,55  | 32 | alfa-kurkumén   | 15,90 |
| 14 | Terpinolén            | 8,92  | 33 | alfa-zingiberén | 16,07 |
| 15 | p-cimenén             | 8,97  | 34 | Viridiflorén    | 16,22 |
| 16 | Linalool              | 9,08  | 35 | gamma-pacsulén  | 16,30 |
| 17 | transz-szabinénhidrát | 9,15  | 36 | Miriszticin     | 16,58 |
| 18 | Borneol               | 10,45 | 37 | Elemicin        | 17,00 |

A reprodukálható gőztér elemzésekhez a nagy viszkozitású kenőmájás mintákat a könnyen keverhetőség érdekében ionmentes víz hozzáadásával, kisebb viszkozitással bíró, mágneses keverővel már keverhető, de ugyanakkor egységes fluidummá alakítottuk. Elektromos fűtés alkalmazásával a megnöveltük a rendszer hőmérsékletét, és egyúttal az illókomponensek gőztérbeli koncentrációját, és ezzel a módszerünk érzékenységet is. A minta gőztérből SPME-GC-MS módszerrel 37 alkotót, többségében mono- és szeszkiterpént sikerült azonosítani. A kenőmájás gőztér alkotóinak SPME mintavételi és GC/MS elválasztástechnikai módszerrel felvett összesen-kromatogramja a fenti 14. ábrán található. A gőztérből azonosított alkotókat, valamint azok retenciós idejét a táblázat tartalmazza.

### 5.2.2 Kalibráció

Tekintettel arra, hogy a kenőmájás SPME gőztér elemzéskor a kondenzált fázist alkotó kenőmájás-víz rendszer heterogén, benne alkotóként, többek között víz, keményítő, lipidek, fehérjék, antioxidánsok, és fűszerek találhatóak. A gőztérben a poláros víz mellett szinte kizárólag a gyártás során a kenőmájás alapanyaghoz adalékanyagként hozzáadott „golden-mix” keverék fűszereinek apoláros komponensei alkotják. Mivel ezen apoláros gőztér komponensek jól oldódnak a kenőmájás egyéb, nagy mennyiségben jelenlévő, nem illékony lipidjeiben, ezért a gőznyomásuk is jelentősen eltér a tiszta, lipideket csak jóval kisebb koncentrációban tartalmazó „golden mix”, keverékbeni gőznyomásuktól. Az előbbieket figyelembevételével könnyen belátható, hogy a kenőmájás „golden-mix” adalékanyag koncentrációja csak az ún. „standard addíciós” módszerrel határozható meg. Ezen eljárás során a minta 1 grammjához rendre 0,08, 0,12 és 0,16 g „golden-mix” keveréket adtunk. A kalibráció során a 37 azonosított gőztér alkotó közül csak a kisebb gőznyomással, ugyanakkor az SPME filmben nagyobb oldhatósággal rendelkező alfa-kurkumén, alfa-zingiberén és gamma-pacsulén esetében kaptunk megfelelő analitikai mérőgörbét. (Az alfa-kurkumén analitikai mérőgörbéje a 15. ábrán látható). A kalibrációs adatokat az alatta lévő táblázat tünteti fel. A korrelációs együttható értékét mindhárom komponensre 0,99-nél nagyobbak találtuk. A tengelymetszet alapján meghatározott „golden-mix” adalékanyag koncentráció alfa-kurkuménre 5,76%, alfa-zingiberénre 5,97%, míg gamma-pacsulénre 6,61% volt. A három koncentráció érték átlagértékük 6,12%, szórásuk 0,44%. A gőztérben detektált és azonosított további 34 alkotóra kapott kalibrációs adatok egyrészt a komponensek kis koncentrációja, másrészt a nehezen standardizálható körülményekből eredő gőznyomás eltérésekből adódhatnak. További kísérleteket folytatunk ezek kiküszöbölésére úgy, hogy a kenőmájás mintákhoz vízmentes nátrium-szulfátot adunk. A vízmentes nátrium-szulfát a minta víztartalmát elvonja. Ezáltal egy könnyebben kezelhető, szilárd mintát kapunk, a nehezen kezelhető vizes emulzió helyett, stabilizálva ezzel az illó alkotók gőznyomását az adott hőmérsékleten.



15. ábra. Az alfa-kurkuménre standard addíciós módszerrel nyert analitikai mérőgörbe.

Standard addícióval kapott kalibrációs eredmények

| Hozzáadott adalékanyag koncentráció (m/m%) | alfa-kurkumén | alfa-zingiberén | gamma-pacsulén |
|--|---------------|-----------------|----------------|
| 16,39%                                     | 60 600 926    | 91 045 113      | 23 473 415     |
| 12,55%                                     | 51 714 448    | 76 853 160      | 21 701 329     |
| 8,15%                                      | 36 060 991    | 55 401 458      | 15 854 952     |
| 0,00%                                      | 16 492 145    | 25 048 192      | 6 687 268      |
| Korreláció                                 | 0,9968        | 0,9986          | 0,9916         |
| <b>Minta koncentráció (m/m%)</b>           | <b>5,76%</b>  | <b>5,97%</b>    | <b>6,61%</b>   |

Kísérleteink egyértelműen bizonyították, hogy a SPME-GC-MS gőztér analízis alkalmassá tehető kenőmajasok keverék adalékanyaga (golden-mix) mennyiségének meghatározására, azonban az illó komponensek gőznyomása stabilitásának növelése további kísérletek elvégzését teszi szükségessé.

Ezen a területen a fototermikus módszerekkel nem sikerült megfelelő analitikai hullámhosszt találni, így nem tudunk mennyiségi meghatározást végezni. Vélemezhetően ennek oka a vizsgált minták komplexitása, azaz egy olyan mátrixban kellene phototermikusan analitikai méréseket végezni, amelyben a túl sok komponens interferenciája miatt ez nem lehetséges.

## 6. ÁLTALÁNOS ÉSZREVÉTELEK

A projekt még sikeresebb és eredményesebb teljesítését jelentősen befolyásolta a futamidő minden évében bekövetkező valamilyen mértékű támogatás megvonás (2003-ban az ÁFA törvény módosítása; 2004-ben 14 %-os elvonás; 2005-ben 10 %-os). Mindezekon túl a Nyugat-Magyarországi Egyetem likviditási gondokkal küszködött az elmúlt időszakban. Ez azt eredményezte, hogy a témavezetők csak a gazdasági főigazgató külön engedélyével folytathattak beszerzést, amely engedély beszerzése nem volt zökkenőmentes. A futamidő alatt több alkalommal is előfordult 8-9 hónapig fennálló tartozás.