

9. Az élelmiszer-vizsgálati laboratóriumok szerepe

dr. Nagy Attila, 2016. április 13.

nagyattila@nebih.gov.hu

NÉBIH szakterületei

- Talaj
- Növényegészségügy
- Peszticid-analitika
- Állategészségügy
- Állatgyógyszer, vakcina, ökotoxikológia
- Genetika, andrológia
- Takarmány
- Élelmiszer
- Élelmiszer eredetű megbetegedések

Labor technika, -technológia

- Klasszikus-modern
- Mikrobiológia
- Fém-analitika
- Analitikai vizsgálatok
- Radioanalitika

Ellenőrzések

- biztonsági paraméterek: évi 50-60 ezer minta, különböző kockázatok, különböző termékek
- termékteszt: brainstorming, a Nébih összes területéről jövő kolléga eldönti, hogy mit lehetne tesztelni
- minőségi paraméterek: összetétel, adalékanyagok vizsgálata, napi rutin része
 - érzékszervi vizsgálatok: 3-5 tagú bizottság

Hamisítások

- himalájai só: parasztvakítás (365 Ft szemben a Nyírségi só 46 Ft-jával)
 - „Több, mint 200 millió éves érintetlen, szennyeződésmentes területéről származik, kézi munkával termelik ki a hegy lábainak mélyéről.”
 - nem állít valótlan, de kérdés, nem igazak-e ezek mind bármilyen bányászott sóval kapcsolatban
- lóhúsbotrány (2013)
 - Lasagne bolognese: Anglia, Franciaország, Dánia, Csehország, Németország, Magyarország, ...
 - 100 kilónyi lóhúst találtak egy "Marha apróhús" feliratú szállítmányban az Anglia északnyugati részén található Lancashire megyében.

- A marhahúsnak címkézett terméket egy kilós kiszerelésben, "marha apróhús" felirattal árusították. A brit élelmiszerügyi hivatal értesítette az EU-t és a magyar hatóságokat, a megmaradt húst azonnal kivonták a forgalomból.
- DNS alapú Real-Time PCR technika: DNS- izolálás
- Taqman próbás real-time PCR
- kontrollok: Előállítottunk 1% lóhústartalmú kontroll DNS-t, negatív (marha) kontrollt, valamint pozitív (ló) kontrollt
- gesztenyemassza-hamisítás: molekuláris biológiai eszközökkel vizsgálva
 - rizzsel, burgonyával és növényi rostokkal hamisítottak, utóbbival nehezen boldogult a labor
 - A NÉBIH Kiemelt Ügyek Igazgatósága szakemberei a kereskedelemben kapható, fagyasztott gesztenyemasszákra fókuszáló célellenőrzéseket tartottak
 - A vizsgálatokat a NÉBIH Élelmiszer- és Takarmánybiztonsági Igazgatóság Élelmiszer Mikrobiológiai Nemzeti Referencia Laboratóriuma végezte
 - IGM validált módszer: rizs, burgonya endogén vizsgálata
 - 37 mintából 14 hamis!
- halfaj-vizsgálatok: rántott fogas helyett nílusi sügér a Balatonon
- milyen fajból származik? a fajazonosítás analitikai lehetőségei:
 - fehérjék detektálásán alapuló immun-analitikai módszerek
 - működési elve: a **húsfehérjék** és az ezekhez specifikusan kötődni képes ellenanyagok kapcsolódásának detektálása
 - előnye: nem igényel nagy értékű műszerezettséget, gyorsan végrehajtható és olcsóbb
 - hátránya: a fehérjék mennyisége kortól, fajtától, szövettípustól függően **ingadozást mutathat**
 - a feldolgozási folyamatok során (érlelés, hőkezelés) a fehérjék töredeznek, denaturálódnak, oldhatóságuk, immunológiai reaktivitásuk változik → érzékenység csökkenhet
 - rendszertanilag közel álló fajok esetében a módszer **keresztreakciót adhat**
 - a kimutatási határ 0,5 – 1%
 - **mennyiségi meghatározásra nem alkalmasak**
 - Kereskedelmi forgalomban csak **az alapvető állatfajokra elérhető**
 - **a kit felbontás után néhány héten belül felhasználandó**
 - anyagköltsége (kittől függően) 11-13.000 Ft/minta.
 - nukleinsav alapú technikák
 - A módszer során az örökítő anyag (DNS) olyan szakaszát keressük, amely **csak a keresett állatfajra jellemző.**
 - Előnye: ha az adott fajból származó DNS - akár nagyon kis mennyiségben - jelen van , a vizsgálatnál alkalmazott polimeráz-lánreakció során olyan mennyiségben sokszorozódik, hogy láthatóvá tehető
 - **az állat valamennyi sejtjében jelen van**, az élelmiszeriparban alkalmazott hőkezelési eljárások során töredezhetsz, de ezt a reagens tervezésénél figyelembe veszik – a feldolgozottág kevésbé befolyásolja a kimutatási eredményt
 - A kimutatási határ terméktípustól függően 0,1-1%.

- Hátránya: nagyobb értékű műszerezettséget igényel, **munkaigényesebb, emiatt jelentősen drágább, mint az ELISA**
 - **menyiségi meghatározásra alkalmazható, de ennek pontossága vitatható**
 - anyagköltsége 12000 Ft (kimutatás), **30 000-60 000 Ft (kvantitatív meghatározás)**
- mézhamisítás: pollenvizsgálat, cukor-összetétel-vizsgálat, eredet és adatbázis-vizsgálat
 - „a „magyar akácméz” kifejezés minden részét – magyar, akác, méz – hamisítják”
 - méhet cukorral etetik és méznek látszó cukoroldatot csinálnak belőle, nehéz a vizsgálata
 - pl. eset: 98%-os kiwipollen-tartalom egy alföldi méznél
- szürkemarha

Real-time PCR alapú kvantifikálás

- Elvárás: húsösszetétel megadása tömegszázalékban
- PCR kvantifikálás azt tudjuk megadni, hogy a mintából izolálható DNS hány %-a származik a keresett fajból
- A húskészítmények számos összetevője nem tartalmaz DNS-t
- Genomiális DNS a target, vagy mitokondriális?
- mitokondriumok mennyisége a különböző szövetekben nagyon változó
- Egykópiás genomiális DNS targetek
- a faj genommérete (emlős- madár)
- a szövetek típusa (sejtméret, DNS izolálhatósága) májból 25 x mennyiségű DNS izolálható, mint a mellizomból, a zsírszövetből izolálható a legkevesebb
- a DNS sérülése a technológiai folyamatok során, - normalizálás pl. miosztatin génre
- víztartalom, zsírtartalom
- Inhibíció pl. fűszerek, vér - inhibíciós kontroll vektor beiktatása
- Jelenleg körülbelül 60-70 %-os a mérési bizonytalansága a módszereknek

Fajta, ivar, kor

- Fajta meghatározása
 - PCR alapú módszerek (microsatellit, AFLP, SNP) pl. szarvasmarha ill. sertésfajták azonosítására
- Az állat neme
 - Nemi hormonok meghatározása GC-MS, HPLC-MS/MS
 - Ivari kromoszómák pl. Y kromoszóma SRY régió amplifikációja, fogzománc amelogenin gén AMELX és AMELY változata
 - A vágóállat kora
 - Takarmányozási különbségek detektálásán alapulhat
 - Pl. tejes bárány, borjú

Takarmányozás, élőhely, tartási mód

- Takarmány

- Az egyes takarmányfélések eltérő összetétele (tej, fű, széna, kukorica, koncentrátumok) kémiai összetevői ill. metabolitjai kimutathatók a vérből, zsírszövetből pl. karotinoidok legeltetett állatoknál (infravörös refl. spektroszkópia)
- Többszörösen telítetlen zsírsavak nagyobb aránya legeltetett állatoknál (gázkromatográfiás eljárások)
- Földrajzi eredet
 - Talajösszetétel, ivóvíz, környezeti szennyezés
 - Különböző nyomelemek meghatározása ICP-MS módszerrel – területre jellemző mintázat
 - Területre jellemző izotóp arányok meghatározása Oxigén izotóp analízis (pl $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$) arány
 - Tenyésztett és vadon élő állatok elkülönítése, orgnikus/hagyományos tartási mód
 - Az eltérő táplálék miatti különbségek mérésére vezethető vissza
 - Csontok keresztmetszetének fluoreszcens mikroszkópiás vizsgálatával megállapítható, hogy hány alkalommal kapott az állat tetraciklineket
 - Zsírsav-metilésztetek GC vizsgálata, izotóparányok meghatározása, ^{15}N nagyobb aránya takarmánykeveréket/intenzív termesztésből származó növényt fogyasztó állatoknál (műtrágya hatása)

Fehérjetartalom, zsírtartalom

- Izomszövet helyettesítése kötőszövettel, zsigerekkel
 - Kollagén: 8% ban tartalmaz 4-hidroxyprolint (hyp) –elasztin 1%-ban
 - Zsigerek : infravörös spektroszkópia
 - Szövetspecifikus ELISA pl. szarvasmarha h-caldesmon nincs jelen a harántcsíkolt és a szívizomban
- Növényi fehérje hozzáadása
 - Szója, borsó, búza
 - ELISA, PCR
 - Növényi zsiradék hozzáadása (phytosterol analízis: sztigmaszterol, béta-sitosterol (HPLC, GC-MS)

Mit vizsgálunk?

- Pollen
- Cukor-összetétel (HPLC)
- Eredet és adatbázis (IRMS, NMR)
- DNS vizsgálat
 - Sejtmagot tartalmazó szövetek enzimes „tisztítása” – DNS izolálás
 - DNS felszaporítás – PCR
 - Gélelektroforézis vagy mikro-szatellit hosszának, ismétlődések számának megállapítása – szekvencia analízis
 - Származásellenőrzés
 - Gyógyászat, kriminológia – szürkemarha fajta – hús
 - DNS izolálás (tisztítás) fehérje denaturálás, speciális tisztító kiték

Élelmiszerlánc-biztonsági nyomon követés: Szarvasmarha

- A nyomon követést biztosító lépések – 99/2002. (XI. 5.) FVM ENAR rendelet
- A borjút születést követő 20. napig megjelölik, majd jelölést követő 7. napig bejelentik az országos adatbázisba (ENAR).
- Állomány-nyilvántartásba vétel.
- Marhalevél kiváltása/kiadása.
- Tenyészet elhagyását be kell jelenteni (átkötés, ideiglenes mozgás, export stb.), állomány-nyilvántartásban átvezetni. Dokumentálható az állat valamennyi tenyészete, ahol életében megfordult.
- Marhalevél kettős dokumentálás (feladó/fogadó tenyészet).
- Vágóhíd – állat azonosítása (füljelzők, marhalevél, állategészségügyi bizonyítvány)
 - vágás dokumentálása (Országos Vágóállat Minősítés Nyilvántartó Rendszer)

A hús eredetének ellenőrzése

- 1760/2000/EK rendelet 13.cikk (2) bekezdés a) pontja szerint a marhahús címkén fel kell tüntetni - többek között - a "referenciaszámot vagy referenciakódot, amely biztosítja a kapcsolatot a hús és az állat vagy állatok között. Ez a szám lehet az állategyed azonosítószáma, amelyből a húst nyerték, vagy egy állatcsoportot jelölő azonosítószám.,, Hazánkban ez az országkód és egy 10 jegyű szám.
- <http://www.enar.hu/> honlapon az hús címkéjén található azonosító megadásával
- <http://wap.enar.hu> cím megadásával is elérhető ez a szolgáltatás

Kockázatbecslés, kockázatértékelés

- fogyasztott élelmiszerek mennyisége határozza meg a kockázatot (mit mennyien vesznek)
- Élelmiszerfogyasztási adatok szerepe a kockázatbecslés folyamatában
 - **Veszély azonosítása (Miről van szó?)**
 - káros egészségügyi hatások azonosítása
 - szerkezet-aktivitás megfontolások
 - sejten végzett vizsgálatok (in vitro)
 - állatkísérletes toxikológiai vizsgálatok (in vivo)
 - humán vizsgálatok (epidemiológia)
 - **Veszély jellemzése (Hogyan és kire hat?)**
 - mechanizmus azonosítása
 - kritikus hatás azonosítása
 - dózis-hatás összefüggésének vizsgálata
 - legnagyobb biztonságosnak mondható dózis meghatározása
 - teszt állatok és ember ill. az egyedek különböző érzékenységének figyelembevétele
 - **Expozíció becslése (Mennyit fogyasztunk?)**
 - élelmiszerben/étrendben az anyag szintjeinek meghatározása
 - fogyasztott élelmiszerek mennyiségének
 - (egyéni bevitel, különleges fogyasztói csoportok) meghatározása méréssel, becsléssel
 - **Kockázat jellemzése (Hogyan ítéltető meg?)**
 - **a becsült expozíció összehasonlítása a veszély jellemzése során megállapított biztonságos bevittel**
- Felmérés metodikája

- 10-74 év: 2 x 24 órás visszaemlékezéses, kikérdezésen alapuló EPIC-SOFT metodika felhasználásával
- 24-órás, visszaemlékezésen alapuló kikérdezés, standardizált lépésekkel
- Interjú végző személy: képzett dietetikus, táplálkozástudományi szakember
- Résztvevő személy adatainak felvétele (kor, nem, testsúly, magasság)
- 3 fő lépés:
 - előző napi ételek/italok áttekintése (gyorslista készítése) – Mikor, hol, mit evett, ivott?
 - A gyorslistában rögzített élelmiszerek, receptek részletes leírása, mennyiségi meghatározása – Pontosan mit és abból mennyit evett, ivott? Készítés módja, speciális élelmiszerek fogyasztása (pl. étrend-kiegészítők).
 - Tápanyagalapú, minőségi ellenőrzés (kcal, fehérje, szénhidrát, zsír)
- A két interjú közötti idő: legalább 2 hét
- Azonnali elektronikus adatrögzítés
- Élelmiszeradagok meghatározását képeskönyv segíti
- Háttérkérdőívek
- Antropometriai mérések mindenkinél

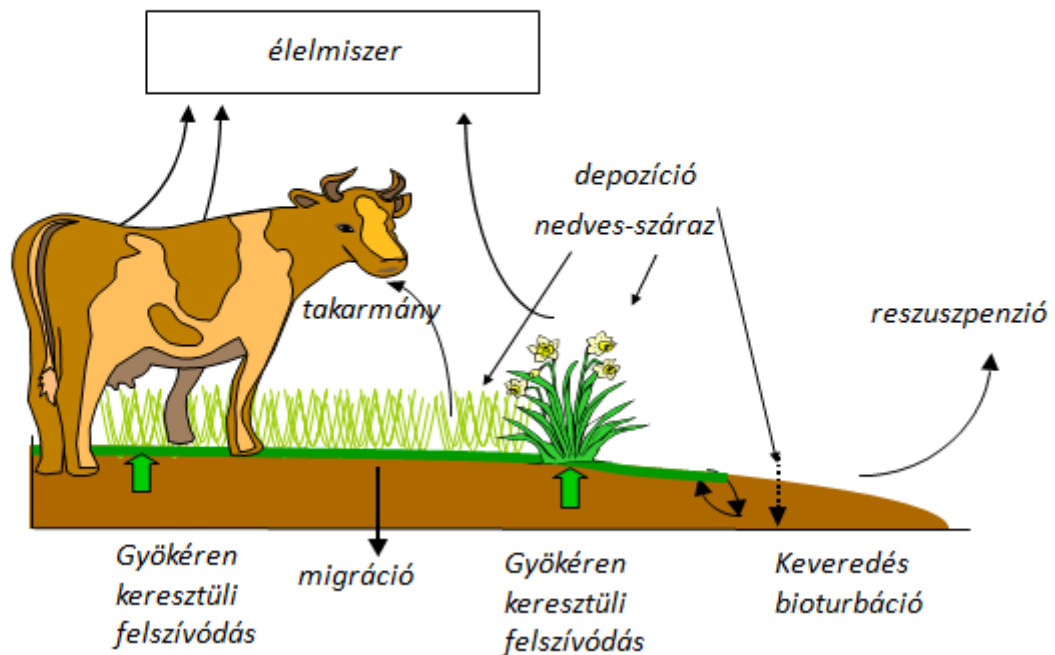
Radioanalitika

- átlagember 2,4 mSv/év sugárzást kap, ehhez képest az orvosi alkalmazásokból 0,4 mSv/év sugárzást kap
 - adódik a kérdés: valóban veszélyes-e a laboranalitika?

Forrás megnevezése	Világátlag, mSv/év	Megjegyzés
Természetes háttérsugárzás	2,4	Típus tartomány 1-10mSv
Orvosi alkalmazás (diagnosztika)	0,4	0,04-1mSv a jellemző tartomány
Légköri atomfegyver-kísérletek	0,005	Csúcsérték 1963-ban 0,15mSv, északi féltekén 10%-al magasabb, mint a délin
Csernobili baleset	0,002	1986-ban az északi féltekére számolt átlag 0,04mSv volt
Nukleáris energiatermelés	0,0002	Szélesebb körű elterjedés, a sokéves tapasztalat, az engedélyezés körültekintő volta csökkenti a kockázatot

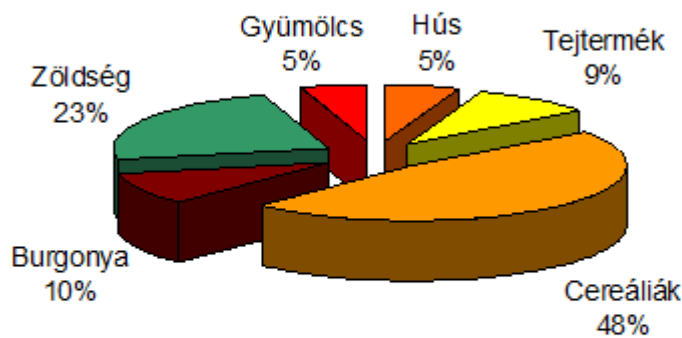
Radionuklidok a szárazföldi környezetben

Emberközpontú felfogás – szárazföldi tápláléklánc



Kockázatbecslés – éves lekötött effektív dózis

Mesterséges izotópok dózismegoszlása élelmiszereknél
csak a Magyarországon termelt élelmiszerekből



Sr-90: 0,56 mSv/év
Cs-137: 0,30 mSv/év

Természetes háttér:
2mSv/év

Fogyasztási statisztika:
élelmiszerek fogyasztási
arányainak alakulása

