

DIPLOMADOLGOZAT

Schillinger Tibor

Schillinger Tibor

2022.



**Magyar Agrár és Élettudományi Egyetem
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet,
Élelmiszerkémia és -Analitika Tanszék**

**Módszerfejlesztés poloskával szennyezett
magyar borok aromarontó komponenseinek
feltérképezésére HS-SPME-GC-MS
technikával**

Schillinger Tibor

Budapest

2022

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet

Szak neve: MSc Élelmiszerbiztonsági és –minőségi mérnök

Diplomadolgozat készítés helye: Élelmiszerkémia és -Analitika Tanszék

Hallgató: Schillinger Tibor

A diplomadolgozat címe:

Módszerfejlesztés poloskával szennyezett magyar borok aromarontó komponenseinek feltérképezésére
HS-SPME-GC-MS technikával

Konzulens: Dr. Üveges Márta

Jókaité Dr. Szatura Zsuzsanna

Beadás dátuma: 2022. október 25.



diplomadolgozat készítés helyének vezetője

(Dr. Abrankó László)



konzulens

(Dr. Üveges Márta)

(Jókaité Dr. Szatura Zsuzsanna)



Mohácsiné dr. Farkas Csilla

Szakfelelős

Tartalomjegyzék

1. BEVEZETÉS	4
2. CÉLKITŰZÉS	5
3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	6
3.1. Az ázsiai márványospoloska jellemzése, elterjedése	6
3.2. Poloskaszag	9
3.3. Bor aromakomponensei, poloskás bor	12
3.4. A „poloskaszag” analitikája	16
3.4.1. SPME-GC-MS mérés technika	16
4. ANYAG ÉS MÓDSZER	21
4.1. Anyagok	21
4.2. Modellbor, valódi, „poloskás bor”	21
4.3. Eszközök, berendezések	21
4.4. Módszerek	22
4.4.1. HS-SPME-GC-MS	22
4.4.2. Minta előkészítés	23
5. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK	24
5.1. Standard molekulák detektálása	25
5.2. Poloskaszagra „vak” borminta analízise	26
5.3. Poloskaszaggal addicionált bor minták vizsgálata	27
5.4. Analitikai teljesítményjellemzők meghatározása	33
5.4.1. T2D linearitás vizsgálata	33
5.4.2. Kimutatási határ és meghatározási határ vizsgálata, mérésstartomány	35
5.4.3. Ismételtetés vizsgálata	37
5.4.4. Reprodukálhatóság vizsgálata	39
5.5. Valódi borminták vizsgálata	39
6. ÖSSZEFOGLALÁS	42
7. IRODALOMJEGYZÉK	44
8. ÁBRAJEGYZÉK	50
9. TÁBLÁZATJEGYZÉK	51
10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	52
11. NYILATKOZATOK	53

1. BEVEZETÉS

Napjainkra közismert tény lett, hogy a legtöbb ízeltlábú invazív rovar faj főként az ázsiai és észak-amerikai kontinensről jut el Európába. Az Európai Unió egyéb országaihoz hasonlóan Magyarországon is már évtizedek óta megfigyelhetők olyan ízeltlábú fajok, melyek nem minősülnek őshonos fajnak hazánkban. Megjelenésük növekvő károkat okoz a mezőgazdaságban, dísznövénykultúrákban, és egyúttal nem kívánatos vendégek a háztartásokban.

Európában a 2000-es évek elején azonosítottak egy új invazív fajt. A *Halyomorpha halys*-t, másnéven ázsiai márványospoloskát, Magyarországon először a 2013-as évben dokumentálták. Az ázsiai márványospoloska egy Kelet-Ázsiából származó rovar. Napjainkban széles körben kiterjedt lélettel rendelkezik, károkat okoz a gyümölcs/zöldség és mezőgazdasági terményekben, természetes ellensége Európában jelenleg nem terjedt el. Ősz végén melegebb, védett helyre húzódik, ott telet át a kifejlett rovar. Amerikában megfigyelték, hogy a szőlőültvények melléképületeiben, és a szőlőfürtök között rovarok ezrei telepedtek meg az őszi hónapokban a hideg elől menekülve. Életciklusa száraz kontinentális éghajlaton még nem ismert, elképzelhető, hogy egy helyett két rovargeneráció is kifejlődhet. A rovar a jelentős károkozás mellett jellegzetes szagával hívja fel magára a figyelmet, amelyet stressz hatására bűzmirigyéből kémiai anyagok keverékéből állít elő. Ezek a szaggal rendelkező molekulák riasztó anyagként szolgálnak a többi rovar, élőlény – köztük az ember – számára. Összetételét már rég óta vizsgálják a kutatók. Számos kémiai alkotója közül a transz-2-decénal (T2D) vegyület felelős az erőteljes szagért. A T2D mellett az egyedek nagy százalékánál jelentős mennyiségben termelődik a tridekán molekula, amely akár többszöröse is lehet a T2D koncentrációjának a szaganyagban, de nem járul hozzá a szag érzékszervi kialakításához. Felmerülhet a kérdés, hogy a szőlő szüretelésekor, és a bor előállítása során befolyásolja-e a végtermék érzékszervi, analitikai minőségét, ha a cefrébe ázsiai márványospoloska kerül.

Diplomadolgozatom célja a poloskaszagért felelős komponens, a transz-2-decénal, valamint a nagyobb mennyiségben megtalálható tridekán mérésére alkalmas gőztéranalízises szilárdfázisú mikroextrakciós technikával kombinált GC-MS módszer (HS-SPME-GC-MS) fejlesztése volt. A módszer alkalmas a „poloskaszag” borból történő minőségi és mennyiségi analízisére.

2. CÉLKITŰZÉS

Diplomadolgozatom témáját Dr. Vétek Gábor, a Rovartani Tanszék tragikusan elhunyt egyetemi docense ihlette, és a téma előzményei Farkas Bence szakdolgozatában olvashatóak. Dolgozatom célja olyan mérési módszer fejlesztése volt, mely alkalmas a „poloskaszag” kimutatására és félkvantitatív, esetleg kvantitatív meghatározására borból. További célul tűztem ki valódi poloskával szennyezett borminták analízisét a fejlesztett HS-SPME-GC-MS módszer segítségével. A poloskával szennyezett bormintákat Nagy Luca szőlész-borász hallgató és témavezetője Dr. Vétek Gábor tanár úr állította elő, melyből egy szakdolgozat is született (Nagy L. (2020)).

Célkitűzéseim:

- A T2D és tridekán vegyületek kromatográfiai paramétereinek meghatározása és optimalása standard oldatokból, retenciós idők megállapítása
- Megfelelő lehetséges belső standard kiválasztása, és kromatográfiai paramétereinek, retenciós idejének meghatározása standard oldatból
- A T2D, a tridekán és a belső standardnak választott 3-oktanol közös standard oldatból történő mérése
- „Poloskaszagra vak” bor mérése a fejlesztett HS-SPME-GC-MS módszerrel, esetlegesen előforduló zavaró komponensek azonosítása – bormátrix meghatározása
- A „poloskaszagra vak” bor addicionálása a 3 mérendő komponenssel egyenként és együtt, illetve mérése SCAN, majd a retenciós idők és a jellemző fragmens ionok ismeretében SIM módban
- A fejlesztett módszer validálása, teljesítményjellemzők megállapítása
 - Kimutatási határ (LOD)
 - Meghatározási határ (LOQ)
 - Lineáris tartomány
 - Ismételhetőség
 - Reprodukálhatóság
- Valódi minták (poloskával kezelt borminták) mérése

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1. Az ázsiai márványospoloska jellemzése, elterjedése

Az ázsiai márványospoloska Kelet-Ázsiából származik. A rovar tudományos neve Halyomorpha halys (Stål, 1855, angolul Brown Marmorated Stink Bug, BMSB) és a szárazföldi rovarok Pentatomidae családjába tartozik. Az ide tartozó fajokat a köznyelvben bűdösbogárként és pajzsbogárként ismerjük. A rokonaihoz hasonló alakú és méretű bűzbogár pajzs alakú teste 12-17 mm közötti hosszúságú. Testének színe a barna több árnyalatából álló márványos mintázatú, antennáin sötét és világos sávok találhatók. Szemei vörösesek. Változó sakktáblás mintázat jellemzi a rovar testének hátsó részét (Faster és Gordon, 2016). A kontinensek között feltehetően kereskedelmi szállítmányokkal utazott, mára Észak-Amerikában és Európában is elterjedt, és komoly károkat okoz.



1. ábra: ázsiai márványospoloska (Internet 1.)

A kifejlett rovarok április végétől bukkannak fel a kertekben, május közepén kezdődik a párzási időszak. Tojásaikat mindig tömött csomókban, a levelek fonákján helyezik el. A kikelő lárvák nem képesek a repülésre, viszont élőhelyükön a nyár folyamán folyamatos károkat okoznak. A belőlük kialakuló imágók általában augusztus végére, szeptember elejére fejlődnek ki. Az 1. ábra bal oldalán a kifejlett poloska látható, jobb oldalán pedig a kikelő lárvákból kifejlődött imágók. Gyakran az ember által lakott helyiségekben, lakásokban megbújva telelnek át (Farkas, 2021).

Szúró-szívó szájszervvel rendelkeznek, ezért nemcsak a termés megszurásával okoznak kárt, hanem a növények között a kórokozókat is terjesztik. Szélsőségesen polifágok, azaz a legtöbb kerti növényen megélnek, például szőlőn, málnán, zöldbabon, paradicsomon, paprikán, de számos szántóföldi és dísnövényen is megfigyelték már tömeges előfordulásukat. A távol-keleti országokban és az USA-ban szóján is jelentős károkat okoznak. Columbia Gorge vidékén (Columbia folyó kanyon) gazdálkodó körtetermesztők

2018-ban ázsiai márványosposloska által okozott kárról számoltak be (Horváth, 2020). A korábban kalcium hiánynak tulajdonított gyümölcshús-foltosodás az esetek legalább felében az ázsiai márványosposloska szívogatásának a következménye (2. ábra).



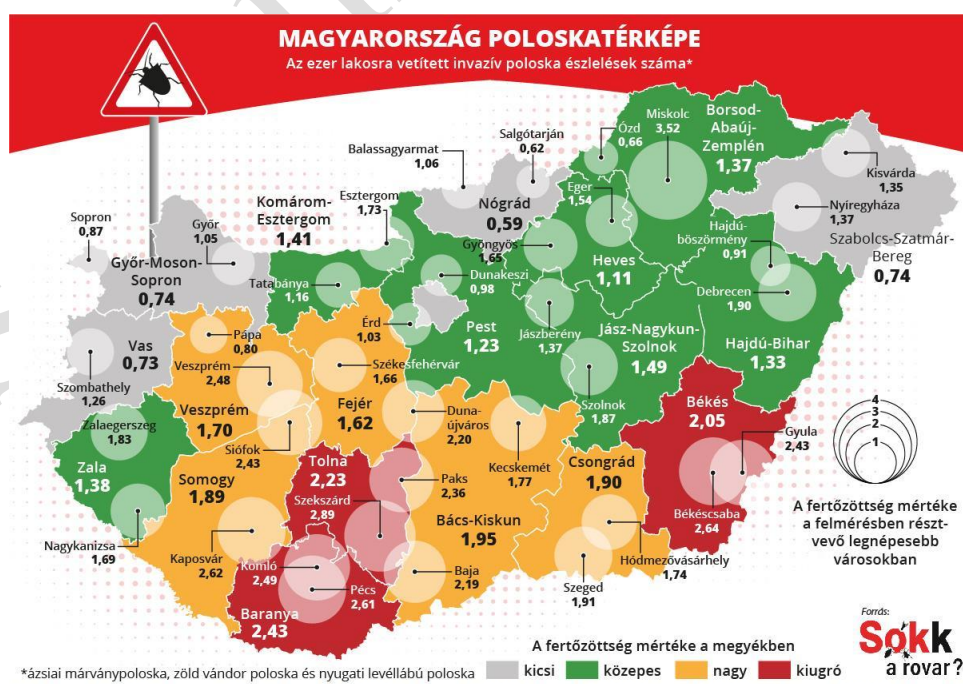
2. ábra: Kalcium hiány okozta gyümölcshús-foltosodás almán (Internet 2.)

A rovar már 43 amerikai államban észlelték, köztük Oregonban, Washingtonban, Kaliforniában és New Yorkban. Ezeken a területeken a szőlő- és borágazat jelentős gazdasági értéket képvisel. A BMSB kártétele már eddig is jelentős gazdasági veszteséget okozott az amerikai mezőgazdasági ágazatban. A jelenlegi adatok azt jelzik, hogy a fertőzés új régiókban terjed, és a populáció sűrűsége növekszik ott, ahol már kimutatták. A szőlőfürtökkel együtt szüretelve a BMSB illékony vegyületeket, transz-2-decenált és tridekánt juttathat a borba. Korábbi munkák kimutatták, hogy e vegyületek jelenléte megváltoztatja a bor érzékszervi tulajdonságait (Mohekar, 2016). A bor minőségére ható időjárási és egyéb környezeti körülmények mellett az ázsiai márványosposloska megjelenése egy újabb tényező, mely negatív irányban befolyásolhatja a bor minőségét (ízét, illatát, aromáját), ami értékcsökkenést eredményez.

A rovar természetes ellensége az Ázsiában őshonos szamurájdarázs, mely a poloskák petéibe rakja saját petéjét. A kifejlődő darázslárva belülről falja fel a poloska petében fejlődő lárvákat. A szamurájdarázs nemrég Dél-Tirol térségében figyelték meg, valószínűleg a poloskával együtt, csak megkésve jelent meg Európában, és az idén már Magyarországon is azonosították (Kontschán, 2019). A gazdák eddig rovarölő permetszerrel, nimfák ellen időzített kezeléssel, kaolinbevonatú riasztó eszközökkel, illetve csalogatóanyag alkalmazásával próbálták csökkenteni a poloska által okozott kártételeket (AGRARSZEKTOR.HU, 2020).

Európában a *Halymorpha halys* egyedeket először 2007-ben Svájcban figyelték meg (Wermelinger et al., 2007); de ezt követően nem sokkal később már Liechtensteinből, Németországból, Spanyolországból, Franciaországból, Ausztriából, Oroszországból, Magyarországról, Bulgáriából, Romániából, Szerbiából és Görögországból is beszámoltak jelenlétükről (Heckmann, 2012; Vétek et al., 2014; Macavei et al., 2015; Dioli et al., 2016;

Simov, 2016; Costi et al., 2017). Olaszországban a faj egyetlen példányát 2012-ben észlelték (Maistrello et al., 2016), ezt követően kevesebb, mint 4 éven belül Észak-Olaszország minden régiójában azonosították (Bariselli et al., 2016), beleértve Szardíniát és Szicíliát is (Dioli et al., 2016). 2012-ben nagyobb mennyiségben megjelent francia szőlőültetvényeken is (Callot és Brua, 2013). A 2018-2020 évek közötti időszakban a Pentatomidae fajokat Bordeaux régió szőlőültetvényeiben begyűjtés után azonosították, majd 2020-ban felfedezték a Halymorpha halys első nimfáit és kifejlett egyedeit a parcellák között (Delbac et al., 2022.) 2010-es évek végéig a Kárpát-medence területén található nyugat-ukrajnai Kárpátalja volt az utolsó régió, ahol ezt a fajt még nem találták meg. Ezen invazív kártevő első példányait 2018-ban Velyka Dobron (Nagydobrony) településen izolálták, 2019-ben pedig egy másik szomszédos településen, későbbiekben pedig többek között Beregszász és Ungvár városban is megtalálták a faj egyedeit (Szanyi et al., 2022). 2014. év szeptemberében Budapest XXIII. kerületében, Soroksáron az ázsiai márványospoloska tömeges jelenlétét észlelték, gyalogakácon különösen nagy egyedszámban találták meg. Ugyanebben az évben kiderült, hogy a főváros számos egyéb pontján is megtalálható, és nemcsak a szabadban, hanem lakóépületekbe húzódva is felbukkant. 2015-ben, szintén Soroksáron, egy körteültetvényen már a terméseken táplálkozó egyedei is feltűntek. A fővároson kívül mindamellett nagy tömegben került elő Ócsáról és Budakalászról (Pest megye), illetve az ország egyéb pontjairól is (Vétek, G., 2016.). A következő ábra a „Sokk a rovar?” csoport által, 2020-ban készített magyarországi „poloska fertőzöttséget” mutatja be (3.ábra).



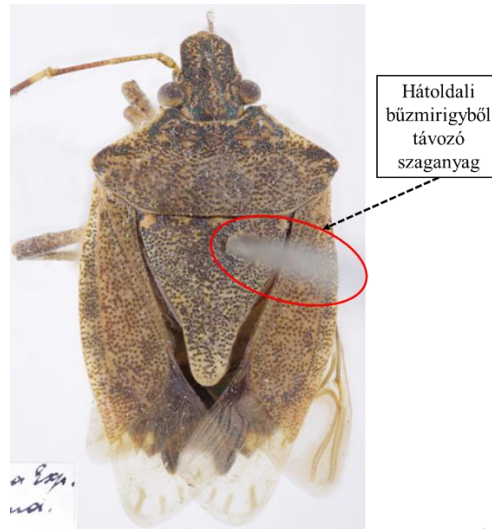
3. ábra: Magyarország poloskatérképe (2020.) (Internet 3.)

3.2. Poloskaszag

A poloskák/büdös bogarak alrendjére jellemző, hogy erős, irritáló szagú védekező vegyi anyagot termelnek, amely akkor szabadul fel, ha a bogarakat valamilyen inger, stressz éri. A szagos anyagokat a rovarok különböző fejlettségi állapottól, valamint az ivarérettségtől függően különböző összetételben termelik. A termelődő vegyületek többféle funkciót tölthetnek be a rovar életében: lehetnek kairomonok, melyek a különböző fajok tagjai közötti kommunikációért felelős vegyi anyagok (Kost, 2008); allomonok, amelyet azért termelnek, hogy egy másik faj egy tagjának viselkedését befolyásolja; illetve lehetnek riasztási-, valamint aggregációs feromonok. A feromonok feladata többféle lehet, megkülönböztetünk például riasztó feromonokat, amelyek a fajtársak túlélését szolgálják a veszélyhelyzetek minél gyorsabb elkerülését segítve. A nagy egyedsűrűségű társas fajoknál, mint például a rovarok, bogarak, az aggregációs feromonok az egyedek csoportosulását, tömörülését segítő kémiai anyagok (Staddon és Thorn, 1979). Bizonyos egyedeknél megfigyelhető, hogy egy adott feromon kettő vagy akár több feladatot is képes ellátni egyidejűleg, ilyen feromonhatású vegyület a tridekán ($C_{13}H_{28}$). Ez a feromon alacsony koncentrációban aggregációt eredményez, míg nagy koncentrációban szétszóródásra ingerli a csoportosulás tagjait, így segítve az esetleges támadás elleni védekezést (Lockwood és Story, 1985) Hasonló hatást fedezett fel a fent már említett Staddon és Thorn (1979) -ben végzett kísérletében, amely során poloskák összekapaszkodott csoportjára nagy koncentrációban, tömény 2-hexenalt csöppentett, aminek hatására az aggregátum pár másodperc alatt feloszlott. Ugyanez a vegyület kis koncentrációban használva viszont aggregációs feromonként funkcionált, az élelem forrását jelölte a lárvák számára. Az említett példa is magyarázza, miért nevezik „levél-aldehydnek” a 2-hexenalt (Staddon és Thorn, 1979).

A transz-2-decénal igen irritáló vegyület, illékony, olajban és alkoholban jól oldódó aldehid. Ez felelős a poloskák bűzös szagáért. Szintelen vagy enyhén sárgás színű, erőteljes cilantro (koriander) illetve narancs aromájú vegyület. Riasztó feromonként szolgáló bűzös anyag (Staddon és Thorn 1979.).

A rovar bűzmirigye (metathoracic scent gland) a háti oldalán helyezkedik el. Veszély, illetve stressz hatás esetén a rovar az itt termelt kellemetlen, irritáló szagú vegyületeket a támadó felé erős sugárban juttatja ki (4. ábra).



4. ábra: Rovar hátoldali bűzmirigyéből távozó szaganyag (Kment et al., (2021))

A stresszhatás eredményként keletkező, poloskák által termelt, majd ürített anyag egyszerű vegyületek keverékeként, viszonylag nagy mennyiségben szabadul fel, így könnyen elemezhető és azonosítható a bennük található komponensek. Több poloska faj vizsgálatából már megállapították, hogy a védekezésre termelt szaganyag összetétele nagyon hasonló (Lockwood és Story, 1987; Aldrich és Borges, 1992; Solomon, et al., 2013).

1974-ben Dazzini és Finzi táblázatban foglalta össze az addig feltérképezett poloskák által termelt szaganyagok kémiai típusait (Dazzini M.V. and P.V. Finzi. 1974.). A felsorolt kémiai csoportok között elágazások nélküli közepes szénláncú alifás anyagok találhatóak, úgymint savak, aldehidek, ketoaldehidek, ketonok, alkoholok és észterek. A szénatomok számát 2-15 közöttinek tüntették fel. A táblázat szerint a szaganyagot leginkább páros szénatom számú vegyületek jellemzik (pl. C₆, C₈, C₁₀, ...), ezzel szemben páratlan szénatomszámú vegyületeket – a tridekánok kívül (C₁₃H₂₈) – a szaganyag nemigen tartalmaz. Csak egyetlen másik páratlan szénatomszámú vegyületet detektált Blum munkatársaival együtt 1960-ban, ami a transz-hept-2-enal volt. Ezt a vegyületet a rizsszagú bűzbogárban (*Oebalus pugnax*) azonosították (Blum, M. S., Traynham, J. G., Chidester, J. B., & Boggus, J. D. (1960). A poloskaszagban található szénhidrogének egy és két kettős kötéssel rendelkezhetnek, főleg *transz* izomériás helyzetben fordulnak elő. Csak kevés kivétellel van jelen *cisz* változat, mert termodinamikailag instabil és hamar *transz* izomerré alakul. A tudósok azt is megállapították, hogy a veszélyt jelző molekuláknak minimum 6 szénatomosnak kell lenniük, valamint létfontosságú, hogy a lánc végén karbonil-csoport helyezkedjen el. Ennek háttérében az áll, hogy a rovarok csápjain lévő receptorok tesztelésekor ezek a vegyületek váltottak ki választ. Ez a vizsgálat is magyarázatul

szolgál a korábban említett transz-2-hexanal és a transz-2-decénal vegyületek fontosságára (J. Insect Physiol. 1974).

Solomon és munkatársai 2013-ban (Solomon et al., 2013) az ázsiai márványospoloska biogén illékony vegyületeit vizsgálta. A poloskákat kétféleképpen stresszelték: az egyik során fulladásból eredő izgatottságnak tették ki, a másik során a poloskák bűzmirigyzeit közvetlen nyomkodásnak vették alá. A keletkezett komponenseket csapdázták, deszorbeálták és az illékony komponenseket GC-MS-sel mérték. Sikerült 25 komponenst azonosítaniuk, melyek között a legnagyobb relatív mennyisége a tridekánnak (46 %), a 5-etil-2(5H) -furanonnak (24 %), a transz-2-decénalnak (13 %) és a transz-2-decenilacetátnak adódott (8,4 %) (Solomon, et al., 2013). A vizsgálat során az egyes stresszhatások esetén a szaganyagban keletkező komponensek, és a hozzájuk tartozó relatív mennyiségek (%) láthatók az 5. ábrán.

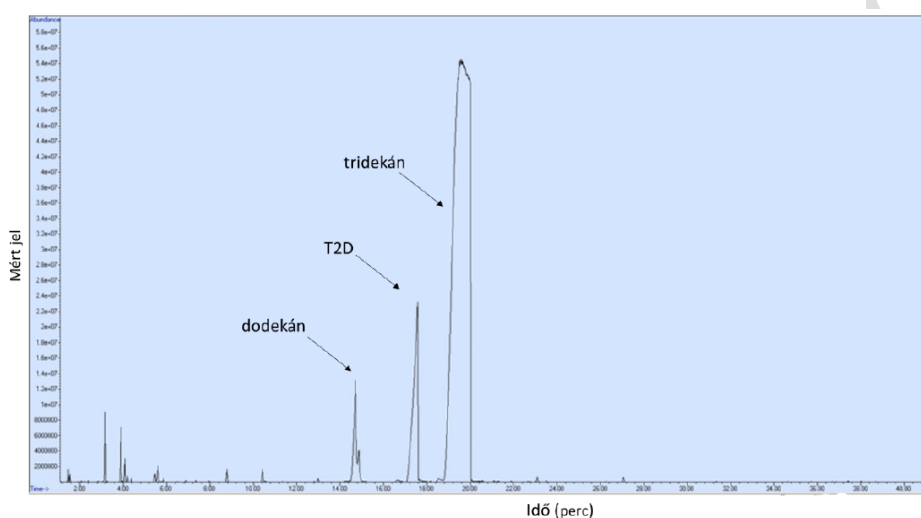
Condition	Chemical Species	Agitation from Asphyxiation Relative Percentage (%)	Direct Glandular Exposure Relative Percentage (%)
Potentially oxidizable by O ₃ compounds*	2(5H)-Furanone, 5-ethyl	9.75	23.72
	2-Decenal, (E)-	7.56	13.27
	(E)-2-Decenyl acetate	4.44	8.40
	2-Hexenal	2.42	1.50
	3-Hexen-1-ol, acetate (Z)-	0.44	0.03
	3-Tridecene, (E)-	<0.01	
	2-Octenal, (E)-		0.98
	2-Decen-1-ol, (E)-		0.93
	2-Tridecene, (E)-		0.70
	5-Methyl-3-heptene		0.21
	3-Hepten-2-one		0.09
	2,4 Hexadienal, (E, E)-		0.06
	2,4-Decadienal, (E, E)-		0.04
	Cyclodecene, (Z)-		0.01
	1,5-Cyclooctadiene, 1-ethyl		<0.01
Nonoxidizable by O ₃ compounds*	Tridecane	72.74	46.36
	Dodecane	2.13	2.89
	Undecane	0.22	0.43
	Tetradecane	0.25	0.11
	Pentadecane	0.06	0.06
	Octanal	<0.01	0.07
	2-Nonanone		0.04
	3,5-Dimethyldodecane		0.04
	1-Nonanol		0.02
	Decane		0.01

5. ábra: Kifejlett *H. halys* bogárban talált vegyületek relatív mennyiségei fulladásos és részleges mirigyexpozíció mellett (Solomon, et al., 2013)

Az ábrából kiolvasható, hogy az első (fulladásos stressz, agitation from asphyxiation) során termelődő szaganyagból csak 12-féle illékony anyag jelenlétét tudták kimutatni, míg a második, nyomkodással stresszelt esetben több, mint 2-szer annyi illékony vegyület termelődött. Ez a tény érdekes lehet a szőlőszüretelési és borkészítési technikák tekintetében. Mindkét esetben a legnagyobb mennyiségben a tridekán termelődött. Ez egy kémiailag stabil, viszont szagtalan vegyület, így nem járul hozzá közvetlenül a poloskák szagához. Elképzelhető azonban, hogy „oldószerként” szolgál a poloskaszagban a többi irritáló vegyület számára (Baldwin, et al., 2014). Korábbi megfogalmazások szerint más jelentősége is lehet, például segítheti az irritáló vegyületek penetrációját a poloskára nézve veszélyes

ízeltlábú ragadozók szervezetébe, illetve konzerváló hatása is lehet a bűzmirigyen belül (Staddon és Thorn, 1979).

Farkas Bence 2021-ben készült szakdolgozatában elsőként publikált Magyarországon befogott ázsiai márványospoloska szaganyagáról felvett kromatogramot (Farkas, 2021). A szaganyagban azonosított és a legnagyobb arányban detektált komponensek a 6. ábrán láthatók. Az általa azonosított komponensek nagy egyezést mutatnak a korábban publikált tudományos eredményekkel. Kutatási munkám alapjául Farkas Bence dolgozata szolgált. A poloskaszag mérésére irányuló módszer fejlesztését az ő eredményeire alapozva folytattam tovább.



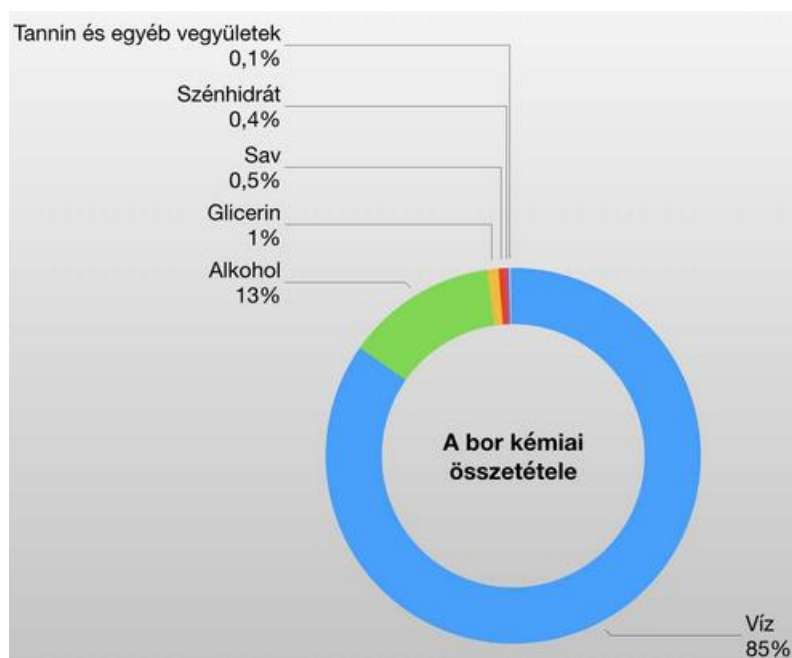
6. ábra: Magyarországon befogott poloska által kibocsátott szaganyag kromatogramja (Farkas, 2021)

3.3. Bor aromakomponensei, poloskás bor

A bor minőségének legfontosabb befolyásoló tényezője a kémiai összetétel, hiszen a bor mintegy 200 szerves és szervetlen vegyület oldata. Ez a rengeteg vegyület csak kis mennyiségben van jelen a borba, de nagyon sok mikro- és makrokomponens összesége határozza meg a bor minőségi és érzékszervi tulajdonságainak kialakulását. Ezek egy része már a mustban is megtalálható, másik részük az erjedés, majd az ászkolás folyamán keletkezik, ebből következik, hogy a bor összetétele nem állandó, hanem folyamatosan változik, fejlődik.

A bor legnagyobb mennyisége a természetes víz, amely kész termék alkohol- és extrakt-tartalomtól függően 70-85% között alakulhat. A további összetevők közül a fontos, megemlíthető anyagok az alkoholok, szénhidrátok, szerves savak és sóik, a szín-, íz- és

aromaanyagok, valamint az egyéb szerves és szervesetlen vegyületek, például ásványi anyagok, oldott fémionok (Kállay M., 2010).



7. ábra: Borok általános összetétele (%) (Internet 4.)

Az alkoholok közül az erjedéskor keletkező etil-alkohol az egyik legjellemzőbb összetevője a bornak, amely általánosságban 9-14 v/v% érték között mozog. Fontos szerepet játszik a bor minőségi osztályozásakor, mivel számos szerves, szervesetlen vegyületet képes oldani (univerzális oldószer), részt vesz az élvezeti érték kialakításában, továbbá a bor természetes védő- és tartósítóanyagának is tekinthető. A magyar borok átlagos alkoholtartalma 7-17 v/v% közötti (Kállay M., 2010).

A borban található egyéb alkoholok között megtalálható a metil-alkohol, amely a szőlő pektintartalmának enzimes bomlása útján keletkezik, nagyobb mennyiségben mérgező, a glicerín, ami egy vízzel és alkohollal korlátlanul elegyedő többértékű alkohol (cukoralkoholok), a bort lággyá, testessé teszi, a kozmaalkoholok, amelyek jelentős szerepet játszanak a bor illat- és aromakialakításában.

A szénhidrátok közül a borok többsége főleg glükózt, fruktózt tartalmaz, mennyiségük és arányuk befolyásolja, hogy az erjedés során a must cukortartalma milyen mértékben alakul át etil-alkohollá. A kész borok esetében a cukortartalom néhány grammtól (száraz borok) a 80-100 g/L-ig (édes borok) terjedhet, ez alapján beszélhetünk száraz, félszáraz, féledes és édes borokról. (Kállay M., 2010)

A szerves savak a bor karakterét kialakító, tulajdonságait meghatározó, továbbá védő hatást kifejtő vegyületek. A savak többsége - borkősav, almasav és a citromsav - a szőlőből származik, és a mustból kerül a borba. A savak másik része - a tejsav, a borostyánkősav, az

ecetsav, a piroszőlősav- erjedéskor, illetve az érlelés folyamán alakul ki. A bor savszerkezete a fajtától, a termőhelytől, az évjáratától, a borkezelési eljárásoktól és az érlelés körülményeitől függően változik. Az említett savakon kívül minden borban megtalálható szénsav is, amely elsősorban az alkoholos erjedés terméke.

A szín-, íz- és aromaanyagok a megfelelő borminőség kialakulásához nélkülözhetetlen vegyületek. A bor színének kialakulásában több vegyület fontos szerepet játszik, a zöld és sárga színét a karotinoidok, a kékszőlő és a vörösbor színét pedig az antocianinoknak köszönhető. Ezek rendkívül érzékeny vegyületek, pH változásra, az oxidációra-redukcióra, valamint a fény hatására átalakulhatnak, elbomolhatnak.

A fenolvegyületek közé tartoznak a bor cserzőanyagai is (csersav, tannin). A tanninok igen fontos alkotórészek, gátolják az enzimek működését, nagy szerepet játszanak a bor stabilitásában, színének, ízének kialakításában, valamint megőrzésében, ezen vegyületek okozzák a száraz vörösborok szájjösszehúzó hatását. A bornak még számos egyéb alkotórésze is van, melyek közül a nitrogéntartalmú anyagok (peptidek, polipeptidek, amidok stb.), az ásványi sók (kálium, vas, réz, foszfor stb.), a vitaminok (B2, B12) és az enzimek (oxidázok, proteázok stb.) a legfontosabbak (Szalai, 2006).

A borban rendellenes elváltozások is végbe mehetnek, ezeket két nagy csoportra oszthatjuk: borhibák (kémiai, illetve fizikai-kémiai elváltozások), illetve borbetegségek (különbéféle mikroorganizmusok, például gombák, baktériumok káros tevékenységek általi elváltozások). A borhibák rendszerint technológiai hiba, gondatlanság eredményként jöhetnek létre, kezelés nélkül a bor íz-, illat- és színvilágában megmaradnak, a bor élvezeti értékét rontják. A borbetegségek is kezeletlenül a bor minőségének további romlását okozzák, ilyen betegség például az ecetesedés, a tejsavas erjedés, ezek főként a must erjesztésekor, magas erjedési hőmérséklet mellett lépnek fel (NÉBIH, 2022). Ez a két típus mind hozzájárulhat, hogy a borban olyan illékony komponensek is megjelenjenek, amelyek a vizsgálatok során zavaróként befolyásolhatják a mérést.

Ismeretesek a külső forrásból pl. alapanyag szennyezettségéből eredő borhibák is. A kanadai Ontario tartományban a helyi borászok egy rejtélyes problémára lettek figyelmesek. Sikeres volt a szüret, de az így nyert borok nagy része mégis kellemetlen szagot árasztott - földimogyoró, paprika, spárga és egyéb nem kívánt növényi jegyeket. 2001-ben az évjárat annyira kellemetlen volt, hogy a borászok több mint egymillió liter bort dobtak ki. Pickering és kollégái (Gibb, R. (2012) vizsgálódni kezdtek, és hamarosan azonosították a metoxipirazin nevű vegyületeket, mint a valószínű bűnösöket. Ahogyan azt gyanították, ezeket a vegyületeket a katicabogarak termelték, és akkor szabadultak fel, amikor a

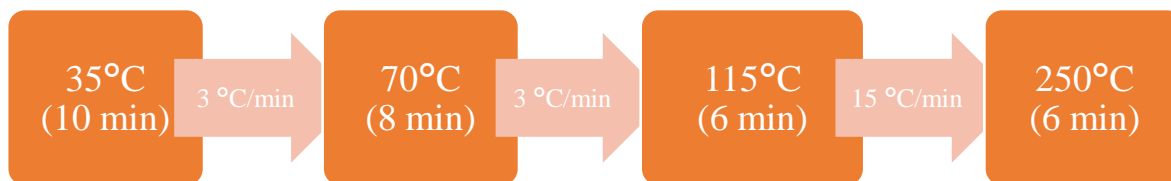
bogarakat a borkészítés során összezüzták. Az érzékszervi küszöbérték ezekre vegyületekre olyan alacsony, mint egy apró csepp egy olimpiai méretű úszómedencében. Becsléseik szerint egy bogár elegendő szőlőnként ahhoz, hogy a keletkező bor ihatatlanná váljék. Tanulmányukban áttekintették a katicabogár-sűrűség csökkentésére irányuló szőlészeti gyakorlatok sorát, valamint az alkil-metoxipirazin-terhelés csökkentését célzó hagyományos és újszerű borászati kezeléseket. Arra a következtetésre jutottak, hogy bár a katicabogár-fertőzés megelőzése előnyösebb, számos olyan borászati beavatkozás létezik, amely helyreállíthatja az e fertőzöttség által érintett borok minőségét, bár ezek relatív hatékonysága és specifitása eltérő (Gary J. Pickering and Andreea Botezatu (2021)).

Hasonló problémát okoz a szőlészek-borászok számára egy másik rovar, az ázsiai márványospoloska is. Tomasino és munkatársai 2013-ban olyan kísérletet alakított ki, amely során Pinot noir szőlőfürtökből (eltérő mennyiségű poloskával szennyezve) fermentált borokat készítettek, ezekből próbálták a jellegzetes poloskaszagot (transz-2-decénal) kimutatni az általuk kidolgozott analitikai technikával, illetve ezt követően érzékszervi minősítésnek is alávetették az így kapott bormintákat. Az érzékszervi minősítésbe 38 főt vontak be, az így kapott adatokból statisztikai értékelés során arra a megállapításra jutottak, hogy az érzékszervileg érzékelhető küszöbérték az 5 µg/liter koncentráció tartományba esik, azonban az elutasítási koncentráció ennek a háromszorosa, körülbelül 15 µg/liter volt. A kutatás során a résztvevők a T2D-t jellemzően a „koriander” és a „zöld” jelzővel tudták jellemezni, ezen jellemzők általánosságban az alacsonyabb kategóriájú, rosszabb minőségű borokhoz társulnak, ezért a komponens jelenléte káros lehet a bor minőségi megítélésére tekintve (Tomasino, et al., 2013).

Mohekar és munkatársai (Mohekar, 2017.) az aromarontó transz-2-decénal és az azt kísérő tridekán vegyületet SPME-GC-MS kapcsolta analitikai módszerrel vizsgálták a bormintákban, belső standard (3-oktanol) jelenlétében. Eltérő mennyiségű poloskát adtak a szőlőfürtökhöz (0 db, 1 db és 3 db poloska/fürt), majd ezeket a poloskával fertőzött mintákat préselték és fermentálták. Gőztéranalízissel (Head-space) egybekötött szilárdfázisú mikroextrakciós (HS-SPME) mintavétel után multidimenzionális gázkromatográfiát (GCxGC) alkalmaztak. Három különböző állófázissal rendelkező SPME szállal dolgoztak: DVB (divinilbenzol), CAR (carboxen/karboxén), illetve PDMS (polideimetil-sziloxán). Az első dimenzióként a GC-FID rendszer tekinthetjük, ahol az állófázis karbovax-polietilén-glikol volt, amely teljes mértékben alkalmas az aldehidek kromatográfiás elválasztására. Ebben a dimenzióban határozták meg az úgynevezett „heart-cut”-t, azaz azt az „időintervallumot”, amelyben eluálódó komponenseket a második dimenziós térbe, a GC-

MS mérőműszerbe képesek voltak átvezetni egy szelep segítségével, egy fűtött interfészen keresztül. A második dimenzióban az állófázis egy polidimetil-sziloxán kolonna volt, ahol egy MS detektor segítségével mérték a vizsgálandó komponenseket.

A következő hőmérsékletprogramot alkalmazták (8.ábra):



8. ábra: Módszer hőmérsékletprogramja (Mohekar et al., 2017)

A komponensek kvalitatív azonosítását standardok és tömegspektrumokat adatait tartalmazó (NIST) könyvtár segítségével végezték el, míg a kvantitatív analízist stabil izotóphígítással hajtották végre, deuterizált-tetradekán ISTD alkalmazásával. A vörösbor mintákra kapott eredmények alapján arra a következtetésre jutottak, hogy a nagy nyomású préselés után kapták a legnagyobb transz-2-decénal és tridekán koncentrációt a préslevelekben, de a kész borban a tridekán nagyon kis mennyiségben volt jelen a mintában, a T2D pedig kimutatási határ alatti koncentrációt mutatott. (Mohekar et al., 2017a; Mohekar et al., 2017b).

Ezen kutatásból kiindulva Vétek Gábor Magyarországon is felismerte ezt a nemzetközi problémát, és hasonló kísérleti elrendezésben poloskával szennyezett borokat állítottak elő kisléptékű fermentációval. A kutatása során nagyjából 1 ládányi szőlőt használtak fel, melyet 9 egyenlő részre osztottak. Vörösbor készítéshez tálcákként 19 darab átlagos méretű fűrtöt helyeztek egy tálcára. A kontroll minták esetén nem került a tálcákhoz poloska, az 1 poloskás tételek esetén fűrtönként 1 poloskát adtak a tálcákhoz, majd végül a 3 poloskás tétel esetén fűrtönként 3 darab poloskát adtak hozzá. A poloskák hozzáadása után következett a bogyózás, majd a tételek szárazra erjedése után a préselés. Minden szinten 3 párhuzamos készült, és az így összeállított mintákat tálcákként fermentálták. Ezeknek a mintáknak a poloskaszag tartalmát érzékszervi minősítésnek vetették alá, és ezen minták poloskaszagát az általam fejlesztett módszerrel mértem. (Nagy L., 2020)

3.4. A „poloskaszag” analitikája

3.4.1. SPME-GC-MS mérés technika

A poloskaszagért felelős vegyület (T2D), illetve a poloskaszagban legnagyobb mennyiségben előforduló kísérővegyület (tridekán) mérésére valamilyen kromatográfias elválasztás és nagy érzékenységű detektálás kombinálásával létrehozott kapcsolt analitikai berendezést érdemes alkalmazni. A vegyületek illékonyok voltak, illetve a bor „illékony

mátrixát” tekintve elválasztástechnikaként mindenképpen a gázkromatográfia (GC) jöhet szóba, amit, ha tömegspektrometriás (MS) detektálással kombinálunk, egy a célnak megfelelő nagy érzékenységű mérés technika jön létre.

A gázkromatográfiában az állófázis szilárd kolonnatekerces, míg a mozgófázis egy inert vívőgáz, amely az esetek nagy százalékában nagyon nagy tisztaságú hidrogén vagy hélium gáz. A kolonna vegyületek szeparálásával kapcsolatos tulajdonságai a kolonna fizikai adottságaitól (hossz, átmérő, filmréteg vastagság) és az álló fázis jellemzőitől függenek. A bevitt mintában lévő, különböző molekulák a kémiai tulajdonságaik és az álló fázishoz való affinitásuk alapján elkülönülnek egymástól. Az elkülönült molekulák a kolonnán eltérő idő alatt jutnak át, eltérő retenciós idő jellemzi azokat. A GC kolonnáról eluálódó komponensek ezek után az MS ionforrásában ionizálódnak. A GC-MS technikában leggyakrabban alkalmazott ionizációs eljárás az elektronütköztetési ionizáció (Electron Impact, EI). Ebben az esetben a molekula elektronokkal ütközve ionizálódik, miközben páratlan elektronszámú gyökkation (M^+) képződik belőle. Ezt nevezzük molekulaionnak, mely tömege gyakorlatilag megegyezik a molekuláéval, a különbség $1 e^-$ tömegének felel meg.

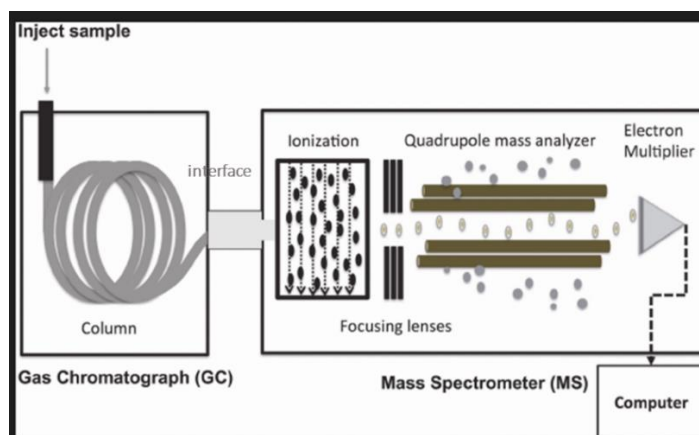


Az elektronokat egy fémszál (pl. volfrámszál) hevítésével, izzó katódból nyerjük, számukat az izzószál hőmérsékletével, energiájukat az alkalmazott gyorsító feszültség változtatásával befolyásolhatjuk. A gyakorlatban általában 70 eV kinetikus energiájú elektronokkal ütköztetik a mintát. Ekkora energiabebatás eredményeképpen a molekulaion tovább fragmentálódik, így jól reprodukálható, jellemző fragmentumokat tartalmazó informatív EI (+) tömegspektrumokat kapunk, mely ujjenyomatszerűen jellemzi az adott molekulát.

A keletkezett ionok aztán fajlagos tömegük szerint (töltésegységre eső tömeg) csökkentett nyomáson, elektromos, vagy mágneses mezők segítségével elválaszthatók. Az elválasztott ionok intenzitását folyamatosan mérjük, így egy ionáram intenzitás –fajlagos tömeg függvénykapcsolathoz, ún. tömegspektrumhoz jutunk. Ez a tömegspektrum a minőségi információ alapja, olyan egyedi, mint ember esetében az ujjenyomat.

A GC-MS mérés eredményeként kapott kromatogramon a retenciós idő függvényében ábrázoljuk a mintakomponensekre kapott analitikai jelet. A kromatográfiás méréseknél a kvalitatív (minőségi) tulajdonságot meghatározó adat a retenciós idő, a kvantitatív (mennyiségi) tulajdonságot pedig az egyes retenciós időknél megjelenő analitikai jel intenzitása, az integrált csúcs alatti terület hordozza, hiszen az arányos az adott komponens

mennyiségével. A 9. ábrán egy GC-MS sematikus ábrája látható EI ionforrással és kvadrupol analízátorral együtt.



9. ábra: GC-MS sematikus ábrája EI ionforrással és kvadrupol analízátorral (Kim, I.-Y., Suh, S.-H., Lee, I.-K., & Wolfe, R. R. (2016))

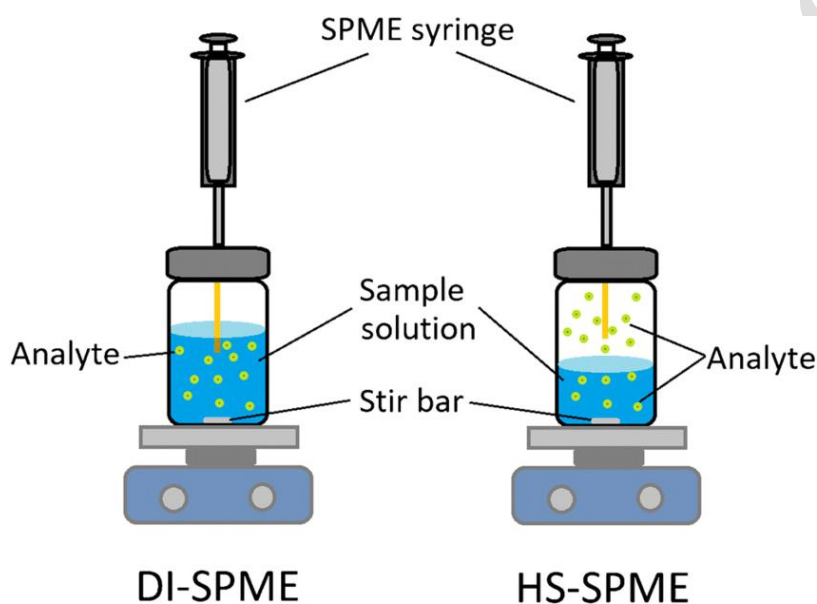
Janusz Pawliszyn és munkatársai az 1990-es években fejlesztették ki a szilárdfázisú mikroextrakciós mintavételi eljárást. Ez a technika alkalmas kis mennyiségű (<1000 μ l) minta reprodukálható mintavételére (Pawliszyn, 1990). Az SPME lényegében egy gyors, oldószermentes extrakciós eljárás, ami a minta és az extrakciós fázis közötti egyensúlyi állapot kialakulásán alapszik. Az extrakciót egy szorbens réteggel bevont kvarcszál végzi, a bevonat felületén megkötődnek a vizsgált anyagok, majd injektáláskor hő hatására deszorbeálódnak. A kvarcszál nagyjából 1 cm hosszú és nagyon sérülékeny, ezért alapállapotban egy speciális foglalatban (acél cső) helyezkedik el. A vizsgálat során, a mintatartó edény szeptumos kupakjának átszúrásakor a szorbens réteggel ellátott szál az acélcső belsejében vissza van húzva, így védve van a sérülésektől. A szeptum átszúrása után rugó segítségével a szál kinyomódik a gőztérbe és megtörténik a mintavétel.

A szorbens réteg többféle anyagi minőségű állófázisból készülhet. A leggyakoribb polimer fázisok a divinil-benzol (DVB), a polidimetilsziloxán (PDMS), a poliakrilát (PA). Gyakran kombinálva alkalmazzák a polimer bevonatokat, melyeket a színkódok is jelölnek. Egy szál nagyjából 200 extrakció elvégzésére alkalmas (Bak, 2011). (Galbács, et al., 2012). Az SPME-t széles körben alkalmazzák különféle vizsgálati területeken, amelyek környezeti, biológiai és gyógyszeripari mintákat, élelmiszereket, íz- és illatanyagokat, törvénytörési, toxikológiai és termékvizsgálatokat érintenek (Sigma-Aldrich Co., 2022). Jellemző felhasználási módok:

- Víz- és levegőminták környezeti elemzése

- Polimerekben és szilárd mintákban lévő nyomnyi szennyeződések headspace-elemzése
- Szagelemzések (ppm, ppb)
- Élelmiszerek íz- és illatanalízise
- Gyújtogatási és robbanóanyag-minták törvényszéki elemzése
- Toxikológiai elemzések véralkohol vagy kábítószeres vizeletben és szérumban történő vizsgálata

Mintavétel során kétféle lehetőség létezik, az úgynevezett Direct immersion- (DI), valamint a headspace- (HS) SPME technika (10. ábra).



10. ábra: SPME mintavételi technikák (Sereshiti, 2020)

A Direct immersion, másnéven közvetlen merítéses SPME azt jelenti, hogy az analitot tartalmazó oldószerbe vagy oldatba közvetlenül belemerítjük az SPME szálát, és így történik meg a mintavételezés. A kutatásom során én a HS-SPME, azaz a gőztérből szilárd fázisú mikroextrakcióval történő mintavételt alkalmaztam, ahol a borminta feletti gőztérből kötődnek meg az illékony komponensek.

A kutatásomhoz a Supelco cég által gyártott SPME szálak közül a Divinilbenzol/Polidimetil-sziloxán (DVB/PDMS) abszorbensréteggel rendelkező száltípust választottam ki, amelyet a cég rózsaszín színnel jelzi, ez a szál megfelelő gázkromatográfiai mérésekhez. A választáshoz nagyban hozzájárult, hogy a Farkas Bence által írt szakdolgozatban is ezt a száltípust használták, és megfelelőnek bizonyult a transz-2-decénal megkötődéséhez. A következő táblázatban (1.táblázat) a Supelco cég által forgalmazott SPME szálakat foglaltam össze aszerint, hogy milyen vastagságú és milyen összetételű az állófázis, ezt milyen színnel jelzi a szál, valamint, hogy egy adott szál milyen kromatográfiai

módszerhez hasznosítható, valamint a szál kötöttségét (stabilitását). A kötött fázisok minden szerves oldószerrel stabilak, azonban néhány nem poláros oldószerrel való használat során enyhe duzzadás léphet fel, míg a nem kötött fázisok néhány, vízzel keverhető szerves oldószerrel stabilak, de enyhe duzzadás előfordulhat.

1.táblázat: SPME szál típusok (Sigma-Aldrich Co., 1999)

Állófázisú filmvastagság	Kötött	Szál jelzete	Réteg anyaga	Felhasználás (módszer)
100 µm	-	Piros/sima	Polidimetil-sziloxán (PDMS)	GC/HPLC
30 µm	-	Sárga/sima		GC/HPLC
7 µm	+	Zöld/sima		GC/HPLC
65 µm	+	Kék/sima	Divinilbenzol/Polidimetil-sziloxán (DVB/PDMS)	GC
60 µm	+	Barna/rovátkolt		HPLC
StableFlex™ 65 µm	+	Rózsaszín/sima		GC
85 µm	+	Fehér/sima	Polikrilát	GC/HPLC
75 µm	+	Fekete/sima	Carboxen™/Polidimetil-sziloxán (CAR/PDMS)	GC
StableFlex 85 µm	+	Világos kék/sima		GC
65 µm	+	Narancssárga/sima	Carbowax® (Polietilén-glikol) /Divinilbenzol (CW/DVB)	GC
StableFlex 70 µm	+	Sárgás zöld/sima		GC
50 µm	+	Lila/redőzött	Carbowax® (Polietilén-glikol) /Temperált gyanta	HPLC
50/30 µm	+	Szürke/sima	Carboxen/Polidimetil-sziloxán (CAR/PDMS)	GC
50/30 µm	+	Szürke/redőzött	StableFlex Divinilbenzol/Carboxen/Polidimetil-sziloxán (DVB/CAR/PDMS)	GC

A következő táblázat az különböző összetételű állófázisok kondicionálásához szükséges paraméterek tartalmazza, amely a mi esetünkben a pirossal jelölt szál állt rendelkezésre.

2.táblázat: Állófázisok kondicionálási paraméterei

Table 1. Temperature and Conditioning Recommendations for GC Use and pH Guidelines

Álló fázis	Réteg vastagság	pH	Maximum hőmérséklet	Ajánlott működési hőm.	Kondicionálási hőm.	Idő (óra)
PDMS	100µm	2-10	280°C	200-280°C	250°C	0.5
	30µm	2-11	280°C	200-280°C	250°C	0.5
	7µm	2-11	340°C	220-320°C	320°C	1
PDMS/DVB	65µm	2-11	270°C	200-270°C	250°C	0.5
Polyacrylate	85µm	2-11	320°C	220-310°C	300°C	2
CAR/PDMS	75µm	2-11	320°C	250-310°C	300°C	1-2
CW/DVB	65µm	2-9	260°C	200-250°C	220°C	0.5
DVB/CAR/PDMS	50/30µm	2-11	270°C	230-270°C	270°C	1

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

Ebben a fejezetben a kutatás során használt kémiai anyagok, mártixot szolgáltató borminták bemutatása következik (3. táblázat), amelyet a mérések során használt eszközöket, berendezéseket szemléltető táblázat követ (4. táblázat). A fejezet második részében a diplomamunkám során használt módszerek háttérét ismertetem.

4.1. Anyagok

A 3. táblázatban a dolgozatban felhasznált anyagok listája látható.

3. táblázat: Anyagok listája

Felhasznált anyag megnevezése	Gyártó, minőségi paraméterek
Abszolút etanol (C ₂ H ₅ OH)	Carlo Erba, GC-MS tisztaságú
Trans-2-decénal referencia standard	(Aldrich, Tisztaság >95%)
Tridekán referencia standard	(Aldrich, Tisztaság 99%)
3-oktanol referencia standard	(Aldrich, Tisztaság 97%)

4.2. Modellbor, valódi, „poloskás bor”

A vizsgálatok során mátrixként egy ismert pincészet 700 milliliteres, reduktív eljárással készült, csavarkupakos, 2019-es évjáratú kékfrankos vörösborát használtam, mivel egy, a magyarországi borpiacra jellemző szőlőfajtából készült bort feltételeztem legrelevánsabb bornak, mint modellbor.

Valódi mintaként az egyetem Rovartani Tanszékén Dr. Vétek Gábor Tanár Úr kutatócsoportja által készített poloskával szennyezett bormintákat mértem. (Nagy L., 2020) A minták 2019. óta a -80°C-os fagyasztóban voltak tárolva.

4.3. Eszközök, berendezések

A következő táblázatban (4. táblázat) a mérésekhez használt eszközöket, berendezéseket foglaltam össze, azok legfontosabb paramétereivel. Először a GC-MS kapcsolt analitikai rendszer két részének adatai láthatóak, kitérve a kolonnára, áramláshoz kapcsolódó adatokra, fűtési- és detektálási programra. Ezután a további eszközök bemutatása következik, SPME szál típusa, beméréshez, mintaelőkészítéshez használt analitikai eszközök (például pipetták) térfogat adatai.

4. táblázat: Eszközök, berendezések paramétereit

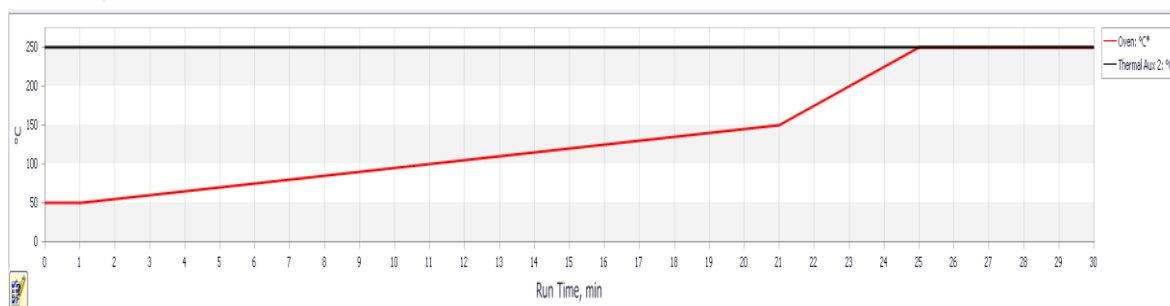
Gázkromatográf	Agilent 7890B GC System
Kolonna típusa	HP-5MS (fused silica kapilláris kolonna)
Kolonna méretei	30 m hosszú, 0,25 mm belső átmérőjű, 0,25 µm filmvastagságú
Vivőgáz	He tisztaság>99,999% (Messer Helium 6.0)
Áramlási sebesség	1.2 mL/min
Felfűtési módszer	50°C (1 min); 50°C – 150°C: 5°C/min; 150°C – 250°C: 25°C/min
Injektor	Spitless
Injektálás típusa	Manuális (kézi)
Injektor hőmérséklete	250 °C
Detektor	Agilent 5977A MSD
Tömegtartomány	30-300 m/z
MS Source	230°C, maximum 250°C
MS Quad	150°C, maximum 200°C
Szoftver	MSD ChemStation G1701EAE.02.02.1431v
MS könyvtár	NIST Library (NIST/EPA/NIH/ Mass Spectral Library Version 2.0.)
További eszközök	
SPME szál (mintavévo gőztérámalizishez)	Supelco SPME Fiber Assembly 65 µm PDMS/DVB, Stableflex 24Ga, Manual Holder, Pink
20 ml-es, szeptumos mintatartó vial	Lab-Ex Kft.
Automata pipetta	10-200 µl, 20-200 µl, 1-5 ml
Hamilton fecskendő	1-10 µl
Analitikai mérleg	
Mágneses keverő, keverőbaba	

4.4. Módszerek

4.4.1. HS-SPME-GC-MS

A mérések során manuális SPME holderrel dolgoztam, Farkas Bence szakdolgozatában optimalizált mintavételi időintervallumot alkalmaztam, tehát borminták esetén a szorbens szálát 15 percig tartottam a gőztérben, és a mintát közben szobahőmérsékleten, mágneskeverővel azonos fordulatszámra kevertetem. Minden mérési nap elején a szálát a specifikációnak (2. táblázat) megfelelően kifűtöttem, és az optimalizált paraméterekkel a vak szárlól is vettem fel GC-MS kromatogramot, hogy megbizonyosodjak a szál tisztaságáról.

A GC felfűtését (4.3. pontban is leírt) bemutató diagramot a következő ábra (11.ábra) szemlélteti. Az ábrán is látható, hogy a módszer szerint 1 percig 50°C-on áll a rendszer, majd 20 perc alatt felmelegszik 150°C-ra (5°C/perc hőmérséklet gradiens), ahonnan 4 perc alatt eléri a végső 250°C hőmérsékletet. Mérések során a szálát 5,5 percig tartottam a fűtőtérben, így minden komponens maradéktalanul deszorbeálódott az SPME szárlól, az eredmények reprodukálhatósága szempontjából fontos volt, hogy minden mérést azonos módon hajtsak végre.



11. ábra: Módszer fűtési programja

A kromatográfiás elválasztást követően az MS detektorba bejutó komponensek a fűtött interfészen keresztül az ionforrásba jutnak, ahol ionizálódnak, majd az anya ionok fragmens ionokra esnek szét. Az így keletkezett molekulaionok a tömegszelektív kvadrupol analizátorba jutnak, ahol megtörténik a tömeg/töltés (m/z) szerinti detektálás. A 15 perces (tömény standardok esetén 1 perces) gőztérből végzett SPME mintavétel után SCAN üzemmódban detektáltam a keletkező molekulaionokat 30-300 m/z tömegtartományban. Ez a mód a standard molekulák detektálására, azonosítására (NIST könyvtár), retenciós idők meghatározására alkalmas. A komponensek azonosítását követően megállapítottam a legintenzívebb fragmens ionokat, majd ezután SIM (Selected Ion Monitoring) módszerre váltottam, amely során komponensenként a 2-2 legintenzívebb molekula ionot detektáltam a kiválasztott retenciós időablakokban. A SIM módszer alkalmazásával javult a jel/zaj arány a mérés alatt. A módszer lényege, hogy a detektorba jutó ionok csak az előre beállított időablakokban, és csak az előre meghatározott m/z értékeken lesznek pásztázva, így az érzékenység növelhető, alacsonyabb kimutatási határok érhetőek el. A módszer előnyös, mivel így több zavaró hatás kiküszöbölhető (mátrixhatás, ion forrás szennyezettség), az esetlegesen együtt eluálódó komponensek spektrometriás szétválasztása is megoldható. Azonban hátránya, hogy az egyidejűleg meghatározható anyagok száma limitáltabb, mint SCAN módban.

4.4.2. Mintaelőkészítés

A mintaelőkészítést tekintve az általános előkészítési metódus minden teljesítményjellemző vizsgálatakor megegyezett. Első lépésként a tömény standard anyagokból egyedi, nagyjából 10000 ppm koncentrációjú törzsoldatokat készítettem etanolos hígítással. A későbbiekben ezeket hígítottam tovább a szükséges koncentrációra. Így készítettem 100 ppm-s oldatokat (100-szoros hígítással), 10 ppm-s oldatokat (100 ppm-s 10-szeres hígítása), illetve 1 ppm-s oldatokat. A linearitás vizsgálat során kisebb koncentrációjú oldatokra is szükség volt, így az automata pipetta mellett Hamilton-fecskendővel is dolgoztam. A linearitás vizsgálatához növekvő koncentrációjú oldatsorozatot készítettem, melyeket etanolban oldott monokomponenses törzsoldatokból mértem össze. Mátrixként a kereskedelmi forgalomban kapható vörösbort (4.2. fejezet) alkalmaztam, valamint a belső standard (3-oktanol) a kalibrációs oldatok mindegyikében azonos koncentrációban volt jelen. A végtérfogat a mintaelőkészítés során minden oldat esetén 5 milliliter volt. A következő táblázat a linearitáshoz összemért (kalibráció) oldatok elkészítését mutatja be (5. táblázat).

5. táblázat: A linearitás vizsgálatához elkészített oldatok összeállítása

Név	T2D 0,736 mg/l etanolban	3-oktanol kb 0,736 mg/l etanolban	Tridekán 6,76 mg/l etanolban	vörösbor	végtérfogat	koncentráció T2D	koncentráció 3-oktanol	koncentráció tridekán (5xT2D)
	ul	ul	ul	ul	ul	ug/l	ug/l	ug/l
K_0	0	50	0	4950	5000	0	7,4	0
K_2,5	12,5	50	6,3	4931	5000	1,8	7,4	8,5
K_5	25	50	12,5	4913	5000	3,7	7,4	16,9
K_10	50	50	25	4875	5000	7,4	7,4	33,8
K_25	125	50	62,5	4763	5000	18,4	7,4	84,5
K_50	250	50	125	4575	5000	36,8	7,4	169
K_100	500	50	250	4200	5000	73,6	7,4	338
Név	T2D 0,736 mg/l etanolban	3-oktanol kb 0,736 mg/l etanolban	Tridekán 0,676 mg/l etanolban	vörösbor	végtérfogat	koncentráció T2D	koncentráció 3-oktanol	koncentráció tridekán (5xT2D)
	ul	ul	ul	ul	ul	ug/l	ug/l	ug/l
K_1	5	50	25	4920	5000	0,74	7,4	3,4

A valódi borminták a 2019-ben Nagy Luca által készített Cabernet sauvignon borból készültek, 0, 1, illetve 3 poloskát tartalmaztak. A mintákat dekantálnom kellett, így a két-két párhuzamos minta tisztáját leöntve homogenizáltam az folyadékmennyiséget, majd közel 5 ml mennyiséget pipettáztam a homogenizált bormintákat tartalmazó centrifugacsövekből, majd hozzáadtam mindhez a belső standardet, hasonlóan a nullás kalibrációs ponthoz. A valódi borminták mérése során a kalibrációt a „0 poloskás” bormintára építettem fel (mátrix illesztett kalibráció), majd ezt követően ezt a kalibrációs egyenest alkalmaztam az 1, illetve 3 poloskát tartalmazó borminták esetén is (6. táblázat).

6. táblázat: Mátrixillesztett kalibráció és valódi poloskával szennyezett borminták összemérése

Név	T2D 0,712 mg/l etanolban	3-oktanol kb 0,736 mg/l etanolban	Tridekán 6,76 mg/l etanolban	valódi vörösbor minta_0 poloska	végtérfogat	koncentráció T2D	koncentráció 3-oktanol	koncentráció tridekán (5xT2D)
	ul	ul	ul	ul	ul	ug/l	ug/l	ug/l
K_0	0	50	0	4950	5000	0,0	7,4	0
K_2,5	12,5	50	6,3	4931	5000	1,8	7,4	8,5
K_5	25	50	12,5	4913	5000	3,6	7,4	16,9
K_10	50	50	25	4875	5000	7,1	7,4	33,8
K_25	125	50	62,5	4763	5000	17,8	7,4	84,5
Valódi minta 1 poloska	0	50	0	4950	5000		7,4	
Valódi minta 3 poloska	0	50	0	4950	5000		7,4	

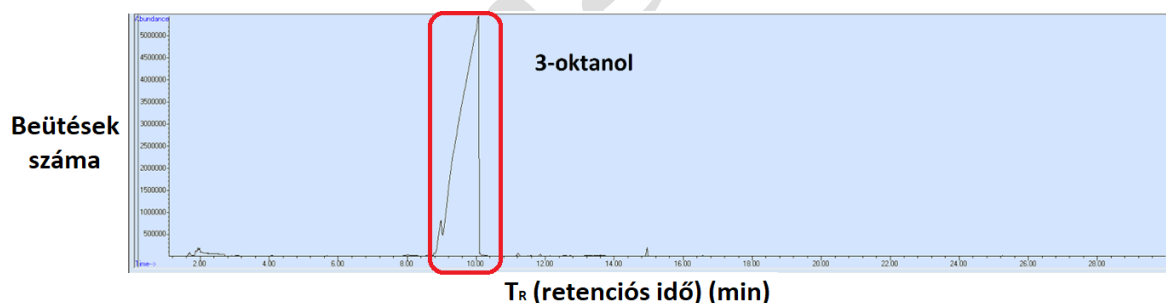
5. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

Munkám során alkalmam nyílt folytatni a korábbi poloskaszag vizsgálatára irányuló kísérletet (Farkas, 2021). A korábbi vizsgálatok eredményeképpen a kromatográfias és tömegspektrometriás detektálási paraméterek optimalizálva lettek, én ezzel a meglévő módszerrel dolgoztam tovább. Céлом volt egy olyan mérőmódszer kialakítása, amiben borok gőzteréből SPME mintavétellel, majd az azt követő GC-MS kapcsolt analitikai módszerrel szelektíven detektálom a borokban fellépő aromarontó poloskaszag

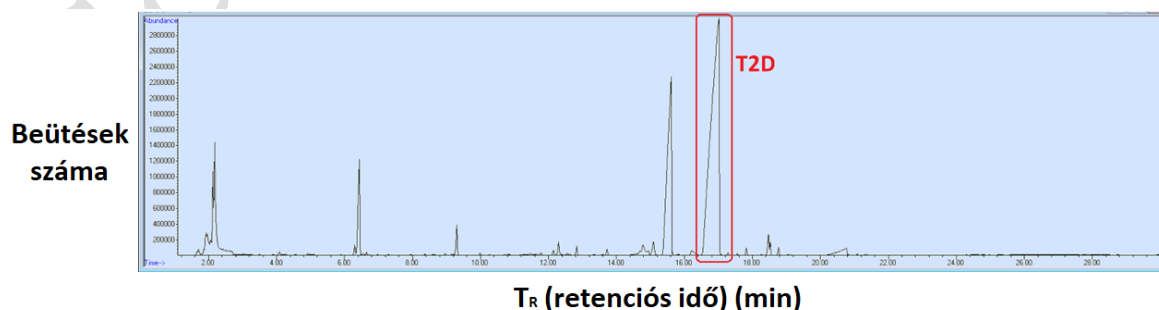
komponenseket, mely során az aromarontó komponensek egyidejű kvalitatív és kvantitatív analízise is megvalósul.

5.1. Standard molekulák detektálása

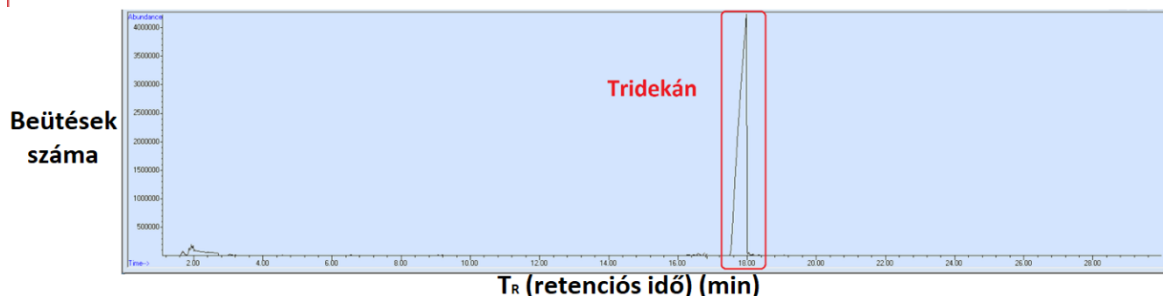
A szál kifutése, majd a vakszárlól készült GC-MS felvételek után meghatároztam, hogy a módszer a transz-2-decénal (T2D), valamint a „poloskaszagban” legmagasabb koncentrációban megtalálható tridekán, és a belső standardként használt 3-oktanol milyen retenciós idővel eluálódna a rendszerben. Ehhez a tömény nagy tisztaságú referencia anyagokból 1-1 cseppet cseppentettem egy-egy 20 ml térfogatú szeptumos edénybe, majd 1 percre mintáztam SPME szál segítségével. Ezt utána a 4.4. fejezetben leírt módszerrel megmértem SCAN üzemmódban. A lemért standard minták kromatogramjait megvizsgálva megfigyelhető, hogy a túl magas koncentráció miatt nem keskeny a csúcsalak, túltelítették a detektort. A retenciós idő ez alapján közelíthetően állapítható meg. A transz-2-decénal esetében (13. ábra), több egyéb komponens jelent meg, emiatt a T2D-t NIST könyvtár segítségével azonosítottam. A 3 totál ion kromatogram (TIC) alapján a következő retenciós időket azonosítottam: T_R (3-oktanol) = 9,5 min; T_R (transz-2-decénal) = 17,1 min; T_R (tridekán) = 17,8 min. A kísérletből kiderül, hogy a 3 komponens megfelelő affinitással kötődik a SPME szálhoz. A következő ábrákon a 3 vizsgált vegyület scan üzemmódban felvett TIC kromatogramjai láthatóak:



12. ábra: 3-oktanol standard vegyület scan üzemmódban felvett TIC kromatogramja



13. ábra: Transz-2-decénal standard vegyület scan üzemmódban felvett TIC kromatogramja



14. ábra: Tridekán standard vegyület scan üzemmódban felvett TIC kromatogramja

5.2. Poloskaszagra „vak” borminta analízise

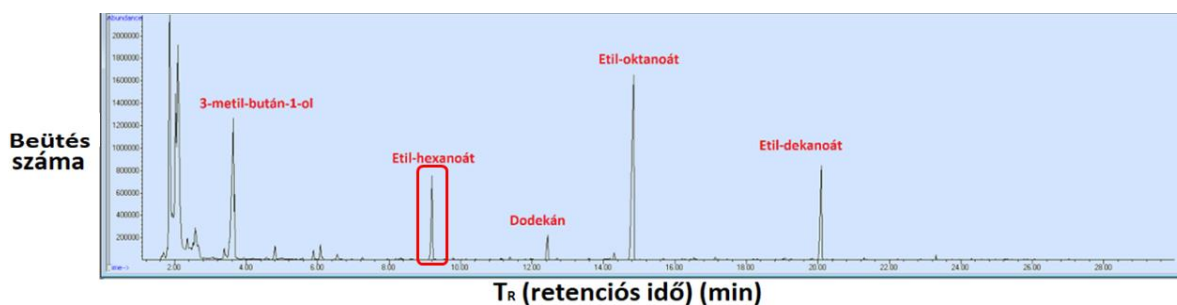
A méréseket egy a 4.2. fejezetben bemutatott 2019-es évjáratú Kékfrankos szőlőből készült borral végeztem abból a célból, hogy megállapítsam, hogy a kiválasztott bor milyen illékony komponenseket tartalmaz. Ellenőriztem, hogy a bor természetes, detektálható illékony komponensei között található-e olyan, amely zavarja a T2D, tridekán vagy a 3-oktanol elucióját. Ezen kísérletek során a borból 5 ml mennyiséget 20 ml-s szeptumos violba pipettáztam, majd mágneses keverő segítségével, a folyadékot kevertetve 15 percig történt a bor feletti gőztérből a SPME-s mintavétel, ezt a következő saját készítésű fénykép szemlélteti (15. ábra).



15. ábra: HS-SPME mintavétel bormintából

Miután a mintavételi idő befejeződött a SPME szálát a GC-ben található linerbe szűrve megindult a borminta mérése. A bor komponenseinek vizsgálata során ugyanazt a kromatográfiai módszert alkalmaztam scan üzemmódban (4.4.1. fejezet), mint a standard vegyületek során. A kapott kromatogram alapján elmondható, hogy a bormintában a standard vegyületek szempontjából fontos retenciós időknél a T2D és a tridekán esetében nincs zavaró csúcs, azonban a 3-oktanol belső standard retenciós idejéhez közel megjelenik egy csúcs. A MS-hez kapcsolódó NIST könyvtár segítségével azonosítottam a 3-oktanolhoz közel eluálódó komponenst, amit a könyvtár 90% valószínűséggel etil-hexanoátként

azonosított. A vizsgált vakbor minta gőztéréből azonosított vegyületeket a 16. ábra mutatja be:



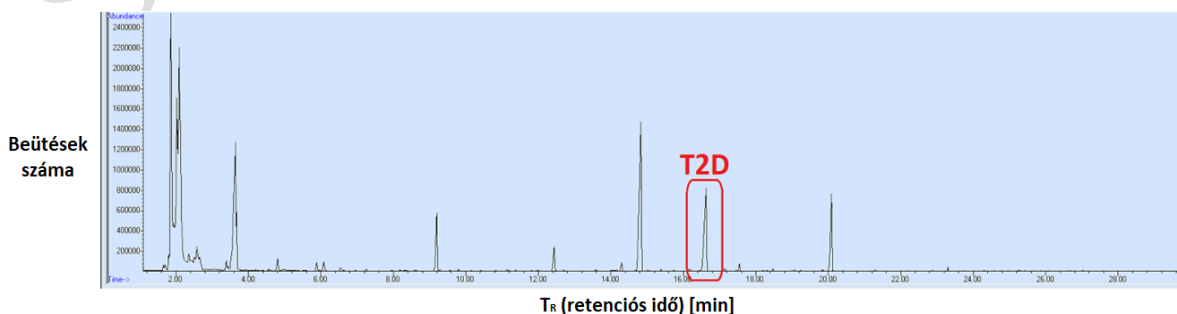
16. ábra: Vakbor scan üzemmódban felvett TIC kromatogramja

A vakbor SCAN módban felvett kromatogramja a gőztérben megjelenő molekulákat jelzi, amelyek közül a legtöbb magas szénatomszámú etil-észter (C₈, C₁₀, C₁₂), de ezen felül kozmaalkoholok (magasabb szénatomszámú alkoholok) is megjelennek. Az általam használt modell borminta legjellegzetesebb észterei az etil-hexanoát, az etil-oktanoát, valamint az etil-dekanoát, ezenfelül primer kozmaalkoholok (például 3-metil-bután-1-ol) is jelen van.

5.3. Poloskaszaggal addíciónált bor minták vizsgálata

Miután meggyőződtem az alkalmazott vakbor gőztérében dúsuló komponenseiről, adalékolási kísérleteket végeztem. Először külön-külön adagoltam a 3 vizsgálandó vegyületet a borhoz, majd a további kísérletek során mindhárom komponenssel együttesen addíciónáltam a bor mintákat. Ehhez először a tömény standardokból külön-külön etanollal közel 10000 mg/l-es törzsoldatokat készítettem, ebből adagoltam először 50 µL-t 5 mL borhoz, így előállítva a komponensekre nézve 100 mg/l-es mintát. A következő lépésekben az így kapott mintát 1 mg/l-es koncentrációig hígítottam hígítószerként a vak (modell)bort használva.

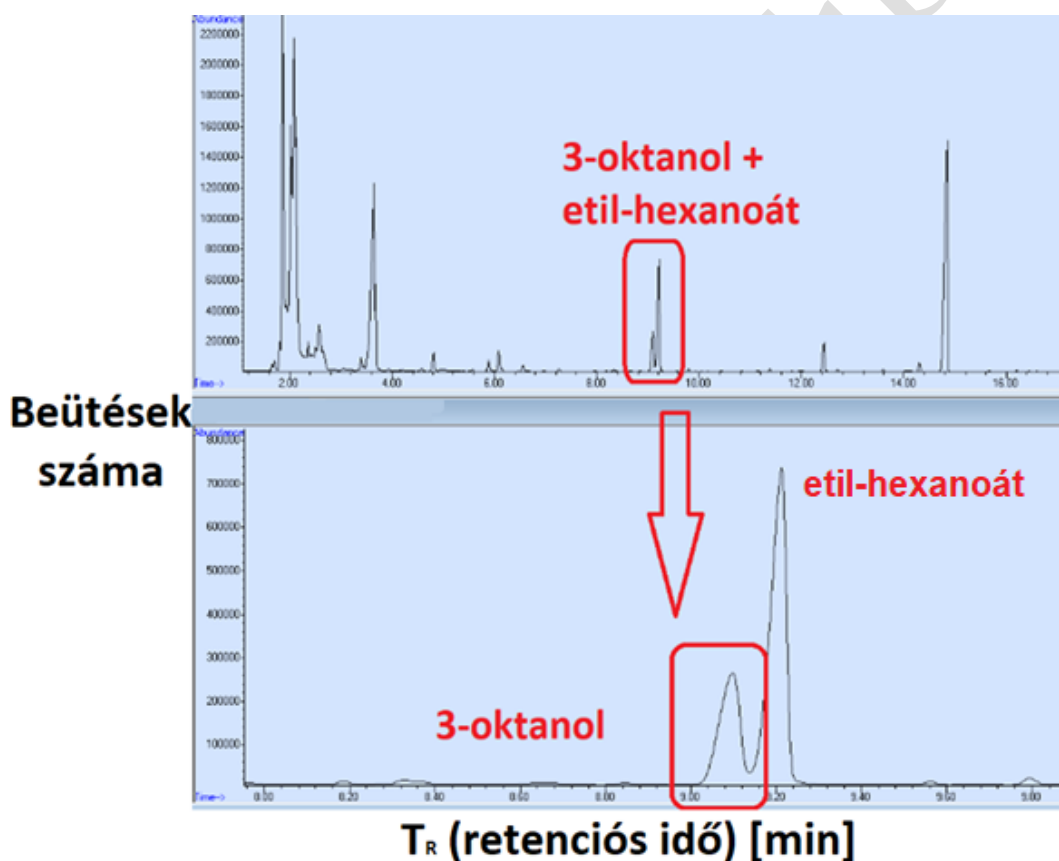
Az itt leírt kísérletekben arra kerestem a választ, hogy a bor mátrixa zavarja-e a mérendő komponens meghatározását, jól detektálhatók-e a bor saját komponensei mellett. Az mérési eredményeket a 18., 19., 20. ábra mutatja be.



17. ábra: 1 ppm T2D-vel addíciónált bor scan üzemmódban felvett TIC kromatogramja

A T2D esetében (17. ábra) nem tapasztaltam a várt retenciós időnél borból származó komponens, vagyis a T2D zavarásmentesen detektálható. A T2D retenciós ideje a borban 16, 6 percnél várható, az azonosítást NIST könyvtár segítségével ellenőriztem.

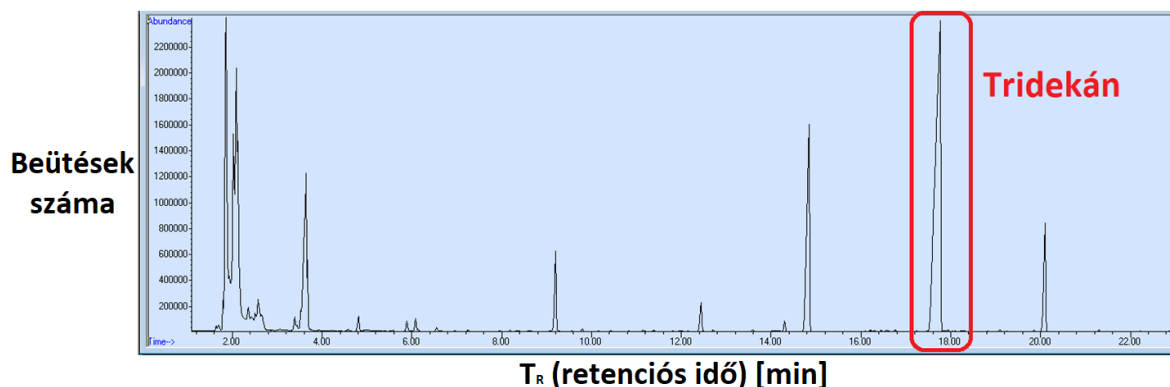
A 3-oktanol esetén (18. ábra) azt tapasztaltam, hogy annak retenciós idejéhez közel megjelenik a borból származó etil-hexánsav-észter. Az ábrán is látható, hogy 1 ppm-s koncentrációban ez a két vegyület közel alapvonal szinten elkülöníthető egymástól az adott kromatográfiás körülmények között, ezáltal az etil-hexanoát nem zavarja a 3-oktanol kiértékelését. Megállapítható, hogy a 3-oktanol és az etil-hexanoát csúcsai vizuálisan is elkülöníthetők egymástól. A következő ábrán azt szemléltetem, hogy a 3-oktanol közel alapvonal szinten elválik az etil-hexánsav-észter SCAN üzemmódban, és ilyen módon csúcs alatti területének integrálása reprodukálhatóan elvégezhető. (19. ábra)



18. ábra: 1 ppm koncentrációban 3-oktanolal addíciónált modellbor minta és a bor saját mátrixából származó etil-hexanoát közeli elúciója

A két komponens elválasztását segítheti a jellemző fragmens ionok tömeg/töltés értékein történő detektálás SIM (Selected Ion Monitoring) módban.

A poloskaszagban legnagyobb mennyiségben jelenlévő tridekán vegyület esetén a T2D-hez hasonlóan nem tapasztalható zavaró komponens annak retenciós ideje közelében. Az ide tartozó kromatogramot a 19. ábra mutatja.



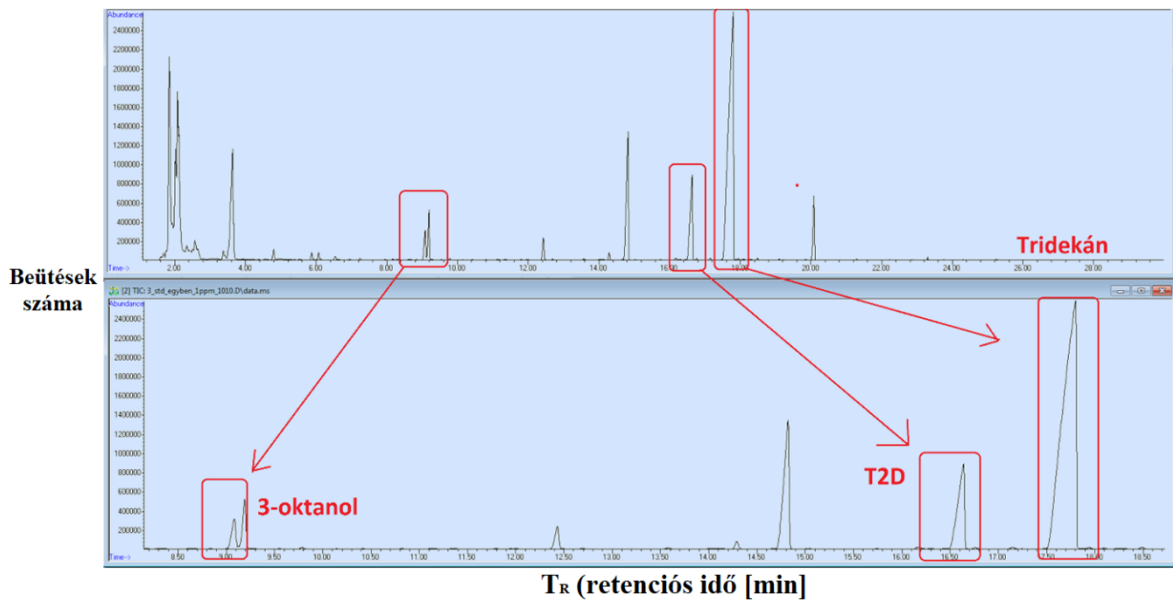
19. ábra: 1 ppm tridekánnal addicionált bor scan üzemmódban felvett TIC kromatogramja

A retenciós időket a bormátrixban sikerült azonosítani az 1 ppm koncentrációjú oldatok segítségével. Azt tapasztaltam, hogy a mátrix mentes standard oldatok mérései során kapott retenciós időkhöz képest a komponensek retenciós ideje a bor mátrixban történő mérés során kissé módosult (7. táblázat).

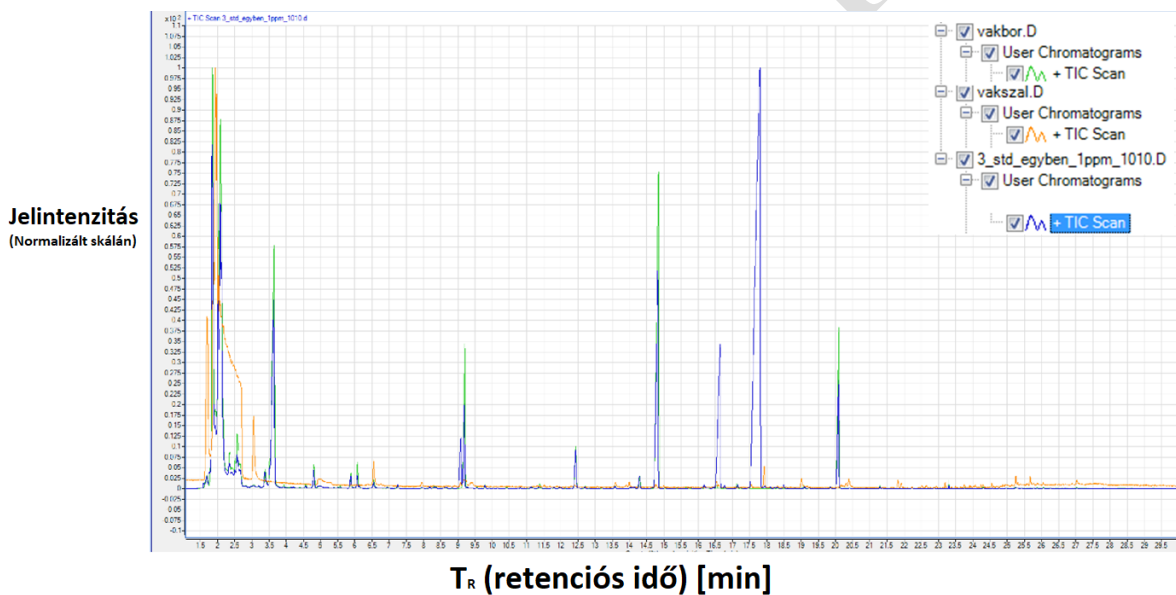
7. táblázat: Bor mátrixban vizsgált komponens retenciós ideje

Komponens	Retenciós idő [min]
3-oktanol	9,10
T2D	16,6
Tridekán	17,8

Következő lépésként a 3 vegyülettel együttesen addicionáltam a vak modellbor mintát 1 ppm koncentráció szinten. A mérés után kapott kromatogramon is látható, hogy a három komponens szimultán mérhető egymás mellett. Ahogy a standard vegyületek külön-külön mérésénél is látható volt, együttes mérés esetén is a T2D és tridekán esetén nincs zavaró komponens, azonban a 3-oktanol esetén ugyanúgy jelentkezik az etil-hexanoát-észter a bormátrixból, ezt a következő ábrán mutatom be.

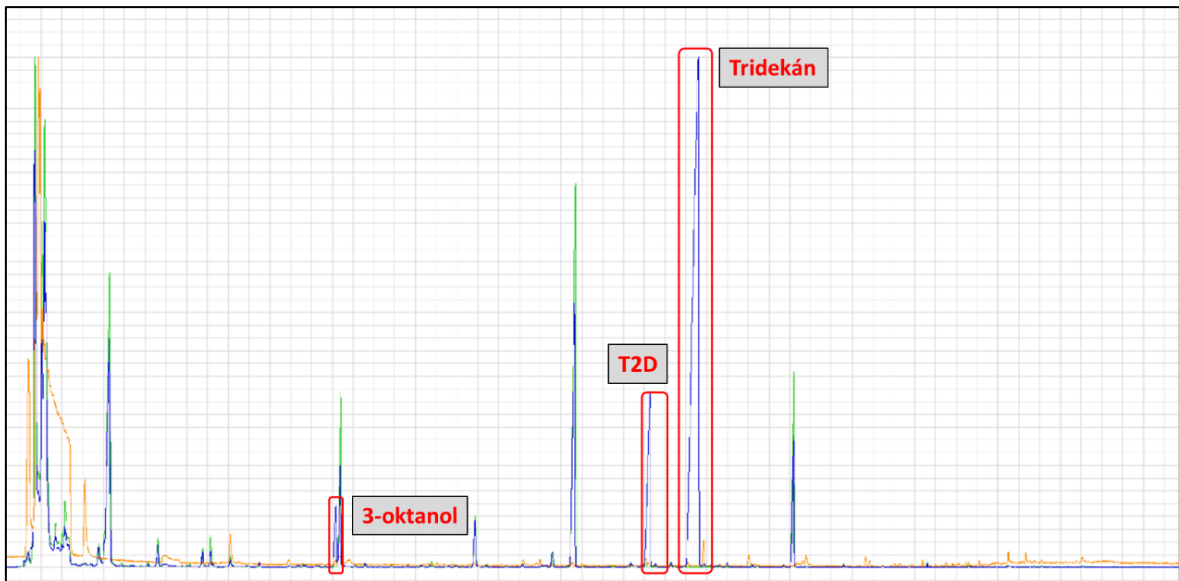


20. ábra: 3 mérendő vegyület szimultán mérésekor kapott TIC kromatogram modellbor mintából



21. ábra: 3-oxtanol, T2D, Tridekán borban 1 ppm

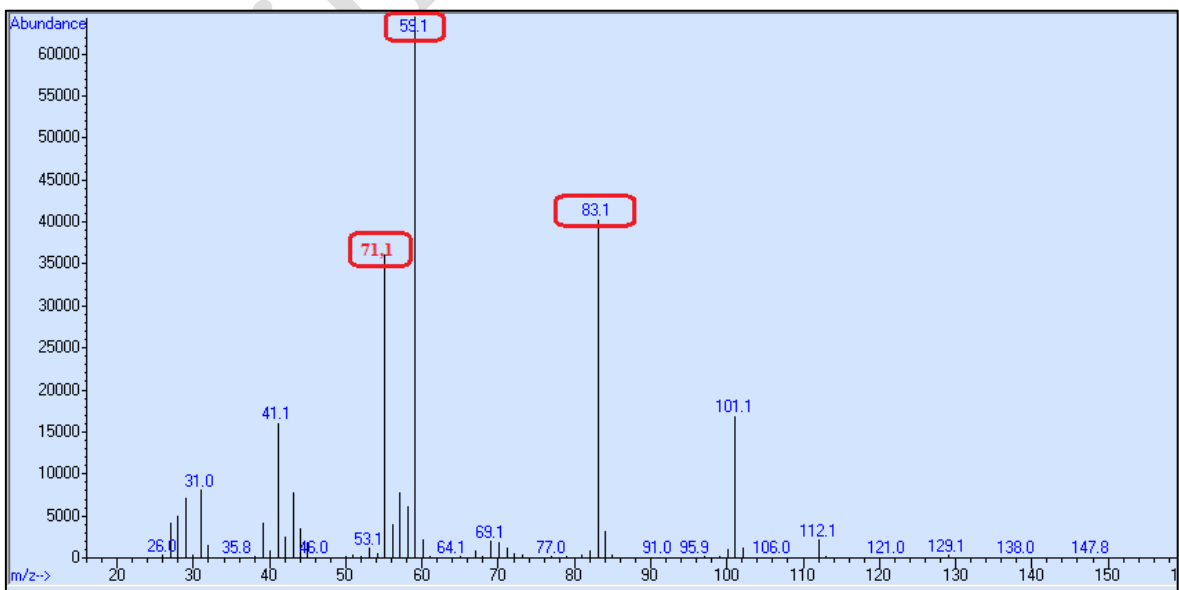
A 21. ábrán a vakszál (sárga szín), a vakbor (zöld szín), valamint a három standard együttes mérésének kromatogramja látható (kék színnel jelölve) „overlay” (átfedéses) nézetben, így könnyen, vizuálisan is megállapítható, hogy mely retenciós időknél, milyen csúcsok jelennek meg vakszál és vakbor görbékhöz képest. A vak borhoz képest három új csúcs jelent meg, amely pont a három hozzáadott standard vegyület csúcsa, amit a retenciós idők és fragmens ionok m/z értékeivel (NIST könyvtárral) azonosítani is tudtam (22. ábra).



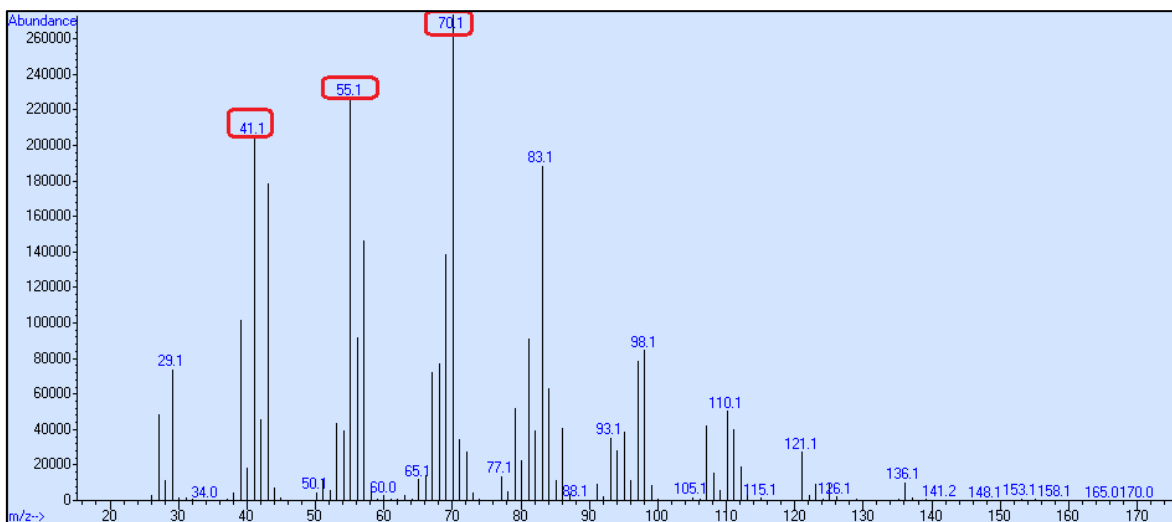
22. ábra: 3-oktanol, T2D, Tridekán azonosítása bormátrixban (1 ppm)

5.4. Fragmens ionok megállapítása

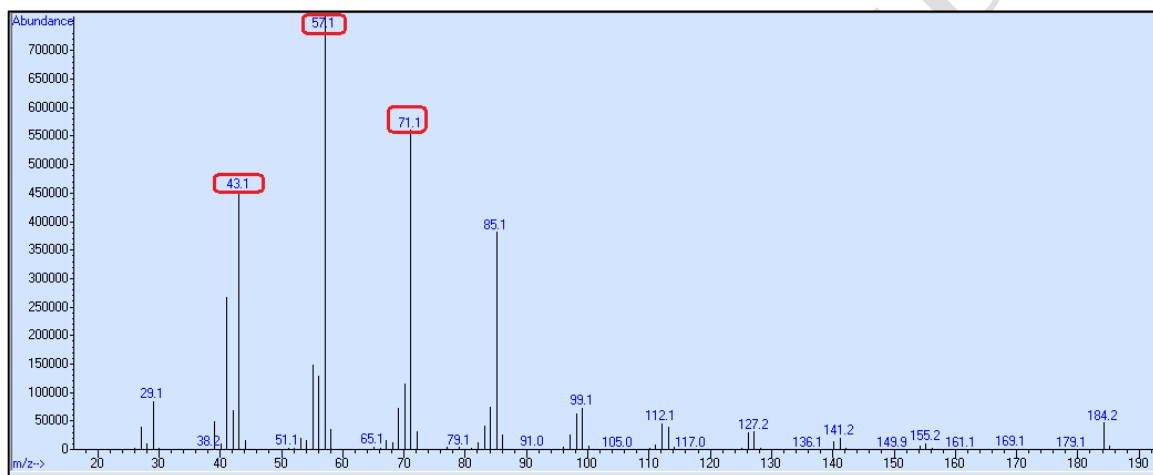
Ezek után a SCAN módban mért három komponens retenciós idejének tudatában a NIST könyvtár segítségével meg tudtam állapítani a vegyületekhez tartozó 2-2 legjellegzetesebb m/z értéket. Egyaránt figyeltem az irodalmi adatokat, valamint a mérések során kapott intenzitás értékeket, ezek alapján a továbbiakban komponensenként a 2-2 legintenzívebb fragmens ion m/z értéket használtam a SIM módszer kiépítése során. Az egyes komponensekhez tartozó legintenzívebb fragmens ionokat az MS-sel scan-ben felvett tömegspektrumokból tudtam kiolvasni, melyek a következő ábrán láthatók. (23., 24., 25. ábra).



23. ábra: 3-oktanol legintenzívebb fragmens ionjai



24. ábra: T2D legintenzívebb fragmens ionjai



25. ábra: Tridekán legintenzívebb fragmens ionjai

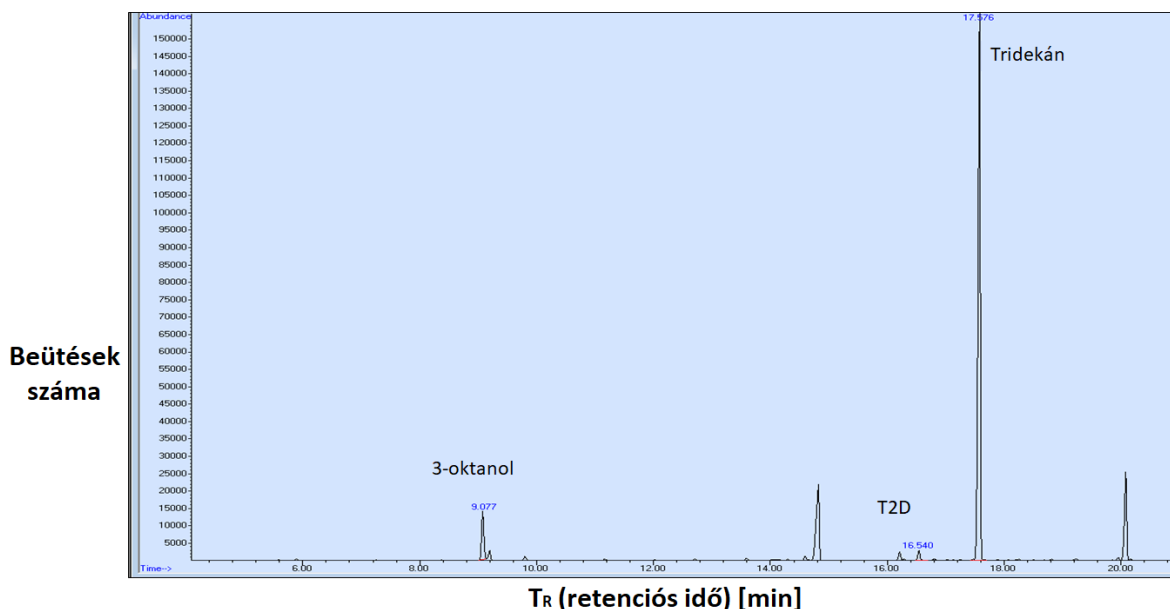
A kiválasztott tömeg/töltés értékeket (intenzitás szerint növekvő sorrendben) a következő táblázat (8. táblázat) foglalja össze.

8. táblázat: Standardok legintenzívebb fragmens ionjai

Standard	Legintenzívebb fragmens ionok [tömeg/töltés]
3-oktanol	59, 83
T2D	70, 55
Tridekán	57, 71

Ezen m/z értékekkel, valamint a retenciós idők alapján beállított időablakkal alakítottam ki a SIM mérési paramétereket, így a többi komponens nem telítette el a detektort, javult a jel/zaj arány a mérés alatt. A SIM módszert egy 10 µg/l-es koncentráció szinten addíciónál 3 komponenses modell vak bor minta segítségével teszteltem (26. ábra). A kromatogramból

kiolvasható, hogy az eddig mindig jelen lévő, modell bor mátrix-ból származó autentikus komponensek nagy része "eltűnt" a kromatogramról, hiszen a szelektív detektálási módnak köszönhetően a beállított m/z aránnyal nem rendelkező molekulák nem kerülnek be a detektorba. Az alapvonal lecsökkent, kisimult, javult a jel/zaj arány. Munkám során a SIM detektálási móddal dolgoztam tovább.



26. ábra: 10 ug/l koncentráció szinten 3 komponenssel addicionált modell vak bor minta SIM üzemmódban felvett kromatogramja.

5.4. Analitikai teljesítményjellemzők meghatározása

A bormátrix feltérképezése, vegyületek azonosítása és szimultán mérését követően eljutottam a módszerfejlesztés egyik fontos fázisába, a HS-SPME-GC-MS módszer analitikai teljesítményjellemzőinek meghatározására. A kutatás során műszerhiba által fellépő időhiány miatt nem volt lehetőségem minden teljesítményjellemzőt megvizsgálni, azonban a módszer valódi mintákra való alkalmazásához legfontosabb paramétereket helyeztem előtérbe, így meghatároztam a mérési technika kimutatási határát (LOD), meghatározási határ (LOQ), a linearitását, az ismételhetőséget, valamint a reprodukálhatóságot a transz-2-decénalra nézve. A dolgozat következő részében ezeket a paramétereket fogom bemutatni.

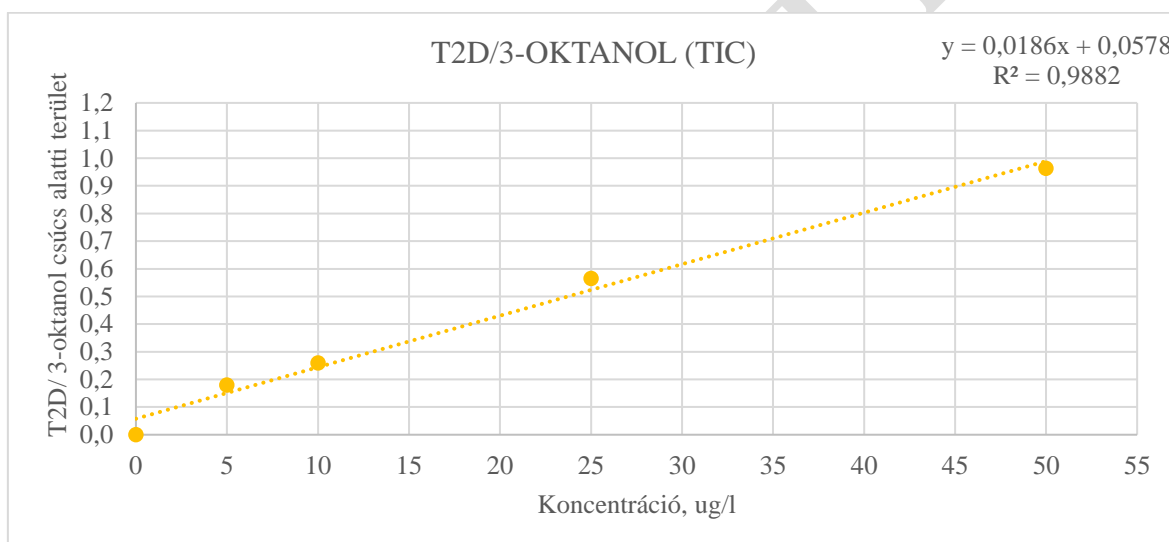
5.4.1. T2D linearitás vizsgálata

Első teljesítményjellemző meghatározásaként a linearitás vizsgálatot végeztem el. A kísérletben azt vizsgáltam, hogy jelen mérési beállítások esetén a T2D egységnyi

koncentráció változására a rendszer egyenesen arányos jelet szolgáltat-e bor mátrixban, és ha igen, akkor ez milyen koncentráció-tartományban történik.

A kísérlet során összeállítottam egy 6 pontból álló kalibrációs oldatsort, mely a T2D-t egyre növekvő koncentrációban (0 ppb, 2,5 ppb, 5 ppb, 10 ppb, 25 ppb és 50 ppb) tartalmazta, az oldatok mátrixa minden esetben a modellként használt borminta volt. Az oldatokban a 3-oktanol belső standard koncentrációja mindig közel 10 ppb lett. A tridekán koncentrációt minden oldatban a T2D koncentrációjának a 5-szeresére állítottam be, modellezve ezzel a poloskaszagban előforduló nagyjából 1:5 arányukat. A mérések során kapott T2D és 3-oktanol csúcsokat kiintegráltam, és a kapott integrált csúcsterületek arányát ábrázoltam a T2D koncentráció függvényében.

A SIM módban felvett TIC kromatogram kiértékelt eredményeit szemlélteti, a 27. ábra pedig az ezen adatok alapján szerkesztett jel-koncentráció összefüggést mutatja be.

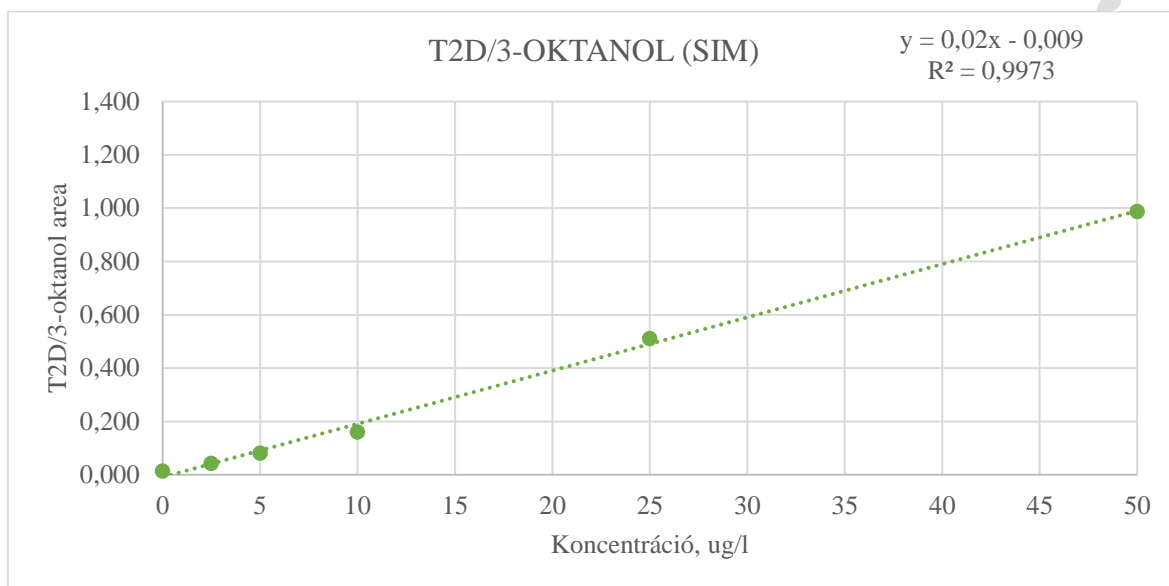


27. ábra: Linearitás vizsgálat a T2D komponensre vonatkozóan SIM detektálást alkalmazva

A 27. ábrán szereplő linearitás vizsgálatához felállított koncentráció-jel görbe szerint az összefüggés lineárisnak tekinthető, a regressziós együttható ($R^2 = 0,9882$) értéke azt jelenti, hogy a pontok jól illeszkednek az egyenesre, vagyis a vizsgált koncentráció tartományban lineárisnak tekinthető az összefüggés a T2D koncentráció és a kapott jel között. A görbe eszerint közel két nagyságrenden keresztül lineáris. A linearitás vizsgálatot a mért komponensek legintenzívebb fragmens ionjainak segítségével is elvégeztem. Az eredményeket a 9. táblázat és 28. ábra szemlélteti.

9. Táblázat: Csúcs alatti területek (SIM)

SIM	Csúcs alatti terület		
Kal. Pont	T2D, 70	3-OKTANOL, 59	T2D/3-OKTANOL
0	2591	194407	0,013
2,5	8390	198227	0,042
5	19065	236377	0,081
10	37012	231559	0,160
25	80959	158391	0,511
50	119148	120732	0,9869



28. ábra: T2D/3-oktanol lineáritás kalibrációs görbe (SIM)

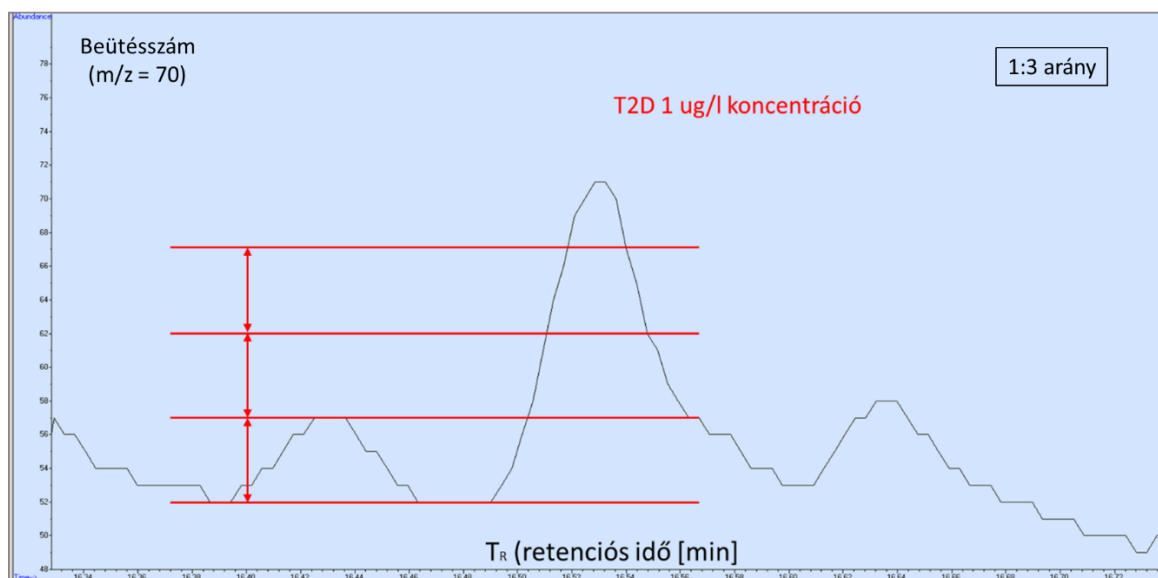
A kapott adatok és regressziós együttható $R=0,9973$ értéke alapján megerősítést nyert, hogy a vizsgált koncentráció tartományban lineárisan összefüggés szerint nő a T2D-re kapott jel a koncentrációval.

5.4.2. Kimutatási határ és meghatározási határ vizsgálata, méréstartomány

A kimutatási határ (Limit of Detection, LOD) definíció szerint az a legkisebb koncentráció, ahol a válaszjel várható értéke megegyezik a vakminta által szolgáltatott válaszjel várható értékével, és a vakmintához tartozó szórás háromszorosával. A meghatározási határ (Limit of Quantification, LOQ) az a koncentráció, amelyre nézve a válaszjel várható értéke megegyezik a vakminta jelének várható értékével, és a vakmintához tartozó szórás tízszeresével. (Galbács et al., 2003)

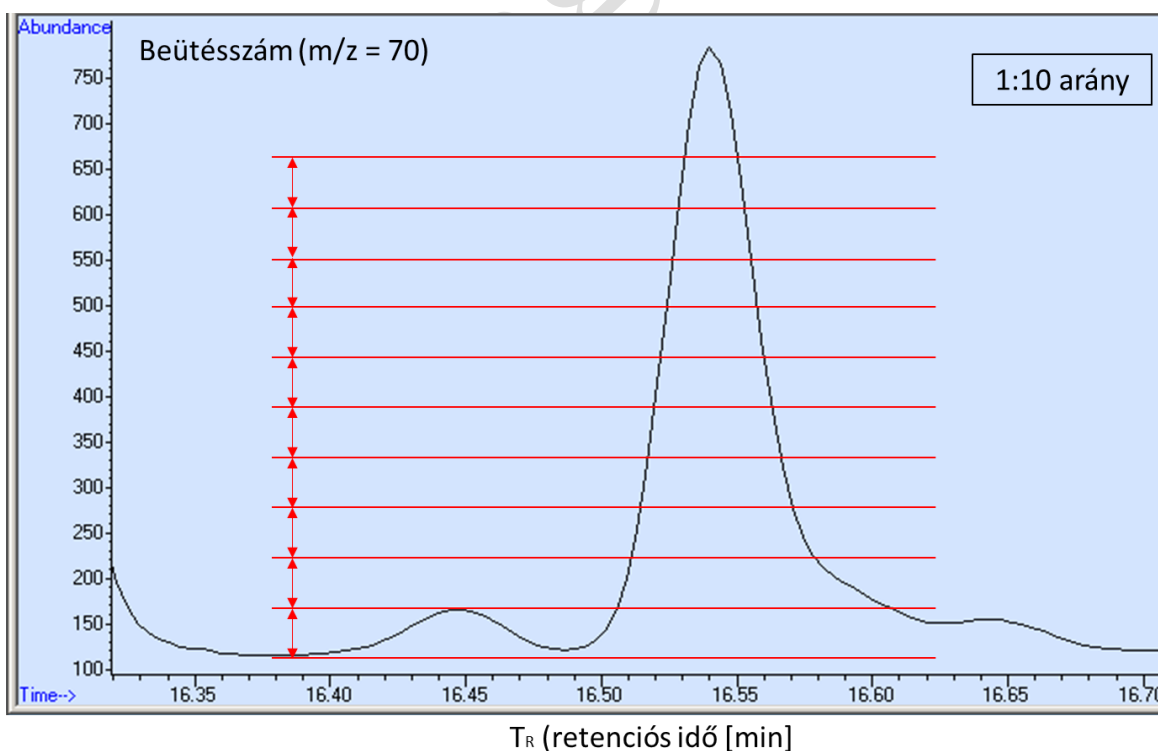
A kromatográfias gyakorlatban azonban elterjedt a becsléssel történő meghatározás, vagyis a jel/zaj arány vizsgálata, melyet vizuális módszernek nevezünk. (Marcelo, R. 2006) Ez alapján, méréseim során a vakminta válaszjelét azonosnak tekintettem a vizsgálandó komponenshez tartozó csúcs előtti kromatogram szakaszon mért zajjal. Ezt a szakaszt háromszor felmértem az 1 ppb koncentrációjú T2D-t tartalmazó borminta kromatográfias

jelére, mely a 29. ábrán látható. Ez alapján állapítottam meg, hogy a módszer LOD értéke T2D-re nézve a modellborban 1 ug/l.



29. ábra: T2D LOD értékének vizuális módon történő becslése

A LOQ megállapításához a kromatográfiai csúcs előtti szakaszt tízszer felmértem a 2,5 ppb koncentrációjú T2D-t tartalmazó borminta kromatográfiai jelére (30. ábra). Ez alapján megállapítható, hogy a módszer LOQ értéke T2D-re nézve a modellborban 2,5 ug/l.



30. ábra: T2D LOQ értékének vizuális módon történő becslése

A LOQ megállapítását követően a módszer analitikai mérésstartománya a következő koncentrációk közé esik: 2,5 ug/l – 50 ug/l.

5.4.3. Ismételhetőség vizsgálata

A következő teljesítményjellemezőként az ismételhetőséget vizsgáltam. Az ismételhetőség vizsgálata során azonos körülmények között végrehajtott párhuzamos mérési eredmények szórását határoztam meg két egymást követő napon. Az ismételhetőség a mérések véletlen hibáját hivatott jellemezni. A cél az, hogy minden befolyásoló körülményt állandó értéken tartva mérjük a mérési eredmények szórását, relatív szórását (RSD%). Ezt a jellemzőt úgy mértem, hogy a kalibrációs sor egyik középső pontját, 10 ppb-s koncentrációjú pontot választottam ki (ami irodalmi adatok alapján az érzékszervileg érzékelhető küszöbérték (5 ug/l) és az érzékszervi elutasítási koncentráció (15 ug/l) közé esik). Ezt a pontot háromszor megmértem egymást követően ugyanazon a napon, állandó körülményeket biztosítva. A vizsgálatot 3 független beméréssel előállított 10 ug/l T2D-tartalmazó addicionált modell bor minta segítségével végeztem el.

A mért kromatogramok integrálása után - a linearitás vizsgálathoz hasonlóan - a kiértékelést TIC-ben, illetve a legintenzívebb fragmens ionokra alapozva is elvégeztem. A táblázatok adatai alapján kijelenthető, hogy az érzékszervi küszöbérték kétszeresének megfelelő viszonylag alacsony koncentráció tartományban belső standarddal korrigált mérési eredményeim relatív szórása 10-20 %, ami elfogadható ismételhetőséget jelent a gyakorlatban egy SPME technikát is magába foglaló mérés technika esetében. Az első mérési napon kapott ismételhetőségi eredményeket a 10., 11. táblázat mutatja be:

10. Táblázat: 1. napon kapott ismételhetőségi eredmények (TIC)

TIC	Csúcs alatti terület			
	Kal. Pont (ug/l)	T2D	3-OKTANOL	T2D/3-OKTANOL
	10	78289	361617	0,216
	10	69067	389285	0,177
	10	51017	348417	0,146
	átlag (ug/l)	66124	366440	0,180
	szórás (ug/l)	13872	20856	0,035
	RSD%	21	6	19

11. Táblázat: A legintenzívebb fragmens ionokra 1. napon kapott ismételhetőségi eredmények

SIM	Csúcs alatti terület		
Kal. Pont (ug/l)	T2D (m/z =70)	3-OKTANOL (m/z = 59)	T2D/3-OKTANOL
10	40561	240752	0,168
10	35289	253957	0,139
10	26713	230786	0,116
átlag (ug/l)	34188	241832	0,141
szórás (ug/l)	6989	11623	0,026
RSD%	20	5	19

12. táblázat: Ismételhetőségi eredmények második alkalommal mért párhuzamos mintákra vonatkozóan TIC-ben mért adatok alapján számolva

A második alkalommal elvégzett ismételhetőségi vizsgálat során mért párhuzamosok eredményeit a 12., 13. táblázat szemlélteti:

TIC (2.)	Csúcs alatti terület		
Kal. Pont (ug/l)	T2D	3-OKTANOL	T2D/3-OKTANOL
10	70070	353730	0,1981
10	67261	336849	0,1997
10	54852	365865	0,1499
átlag (ug/l)	64061	352148	0,183
szórás (ug/l)	8098	14573	0,028
RSD%	13	4	15

Az eredmények alapján elmondható, hogy SIM módban mérve a módszer precizitása néhány százalékkal javult.

13. táblázat A legintenzívebb fragmens ionokra kapott ismételhetőségi eredmények második alkalommal mért párhuzamos mintákra vonatkozóan

SIM (2.)	Csúcs alatti terület		
Kal. Pont (ug/l)	T2D (m/z =70)	3-OKTANOL (m/z = 59)	T2D/3-OKTANOL
10	37008	220028	0,1682
10	31181	218923	0,1424
10	26824	201483	0,1331
átlag (ug/l)	31671	213478	0,148
szórás (ug/l)	5110	10403	0,018
RSD%	16	5	12

5.4.4. Reprodukálhatóság vizsgálata

Kiszámoltam a két egymást követő napon mért T2D, a 3-oktanol, valamint a 3-oktanolal korigált T2D csúcs alatti területének átlagát, szórását, és RSD% értékeket. A vizsgálat célja, hogy változzanak azok a paraméterek, amelyek esetlegesen hibát vihetnek a mérésbe, valamint, hogy egy adott mintatípushoz és egy adott koncentrációban történő mérés során közelítsük a mérési bizonytalanságot.

A 14. táblázatban a reprodukálhatóságot jellemző, két különböző napon mért adatokból számolt átlagok, szórások és relatív szórás értékek olvashatóak. A következő táblázat ezeket az eredményeket mutatja be:

14. táblázat: Reprodukálhatóság vizsgálata során TIC és SIM módban mért csúcs alatti területek segítségével számolt adatok

Reprodukálhatóság (TIC)	T2D	3-OKTANOL	T2D/3-OKTANOL
átlag	65093	359294	0,181
szórás	10222	17895	0,029
RSD%	16	5	16
Reprodukálhatóság (SIM)	T2D (m/z =70)	3-OKTANOL	T2D/3-OKTANOL
átlag	32929	227655	0,144
szórás	5647	18398	0,021
RSD%	17	8	14

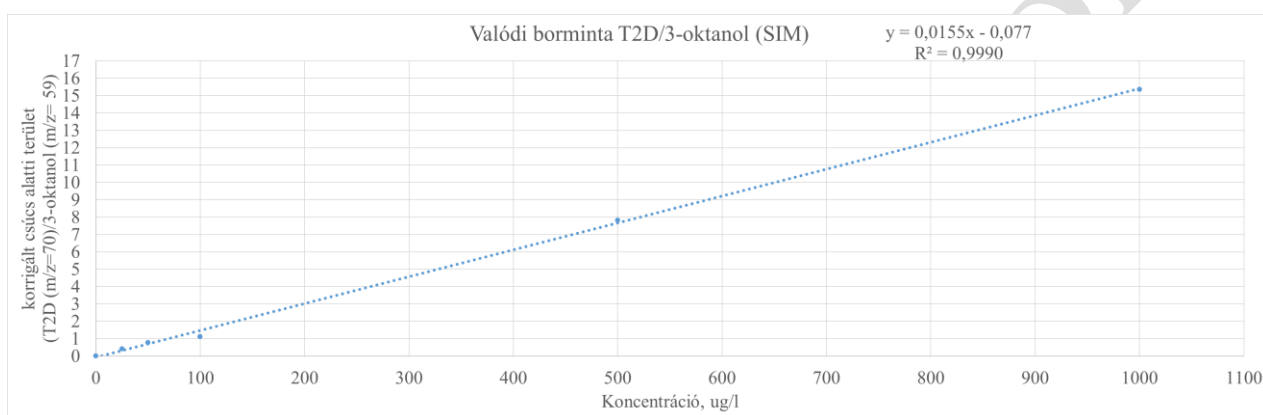
Az RSD adatokból megállapítható, hogy a legintenzívebb fragmens ion segítségével kiértékelt adatok alapján kapott RSD% értéke jobbnak adódott a TIC módban mérthez képest. A 14-16%-os RSD kézi SPME módszer esetén megfelelő reprodukálhatóságnak mondható, beleszámítva, hogy a módszer használata során rengeteg hibalehetőség adódhat.

5.5. Valódi borminták vizsgálata

Végül a fejlesztett és részben validált módszer alkalmazásával megmértem 3 valódi borminta T2D tartalmát. Mint már a 3.3-as és a 4.2-es fejezetben említettem, „0 poloskás”, „1 poloskás” és „3 poloskás” mesterségesen szennyezett bor állt rendelkezésemre, melyet a Rovartan Tanszék munkatársai készítettek. Ezeknek a bor mintáknak a T2D tartalmát mértem meg a fejlesztett módszerrel. A mintákból kevés mennyiség állt rendelkezésemre, ezeket homogenizáltam, majd hozzáadtam mindhez belső standardot, a kalibrációs oldatokkal megegyezően módon. Mátrix illesztett kalibrációt alkalmaztam, melyet a 0 poloskás borra építettem fel. A méréseket SIM módban végeztem. A kalibráció során kapott mérési adatokat a 15. táblázatban, a kalibrációs összefüggést a 31. ábrán mutatom be.

15. táblázat: A 0 poloskás borra épített mátrix illesztett kalibráció során kapott csúcs alatti terület adatok

Kal. Pont (ug/l)	Csúcs alatti terület		
	T2D (m/z=70)	3-OKTANOL (m/z=59)	T2D/3-OKTANOL
0	0	1182948	0,0000
25	491791	1201532	0,4093
50	885575	1137645	0,7784
100	1243364	1123807	1,1064
500	6469247	827306	7,8197
1000	10881532	708475	15,3591



31. ábra: 0 poloskás borra épített mátrix illesztett T2D kalibrációs egyenese

Az ábrán jól látható, hogy a regressziós együttható értéke 0,9990, vagyis a kalibráció során kapott mérési pontok jól illeszkednek a felállított egyenesre.

A kalibrációt követően megmértem a különböző poloskás borok T2D tartalmát. A 16. táblázatban mutatom be a 3 bormintában mért T2D koncentrációkat.

16. táblázat: Valódi minták T2D koncentráció számítása a legintenzívebb fragmens ionok csúcs alatti területei alapján

	T2D (m/z=70)	3-OKTANOL (m/z=59)	T2D/3-OKTANOL	Koncentráció (ug/l)
poloska0	0	1182948	0,0000	0,00
poloska1	8464	1426351	0,0059	0,38
poloska3	17631	1623137	0,0109	0,70

Az eredményeket tekintve a valódi borminták esetén látható, hogy a poloskaszagot jellemző T2D mennyiségét a módszer kimutatási határa (1 ug/l) alatt detektáltam. Eredményeim egybe esnek a Mohekar és munkatársai által 2017-ben publikált eredményekkel, miszerint a poloskával szennyezett kész borban a T2D kimutatási határ alatti koncentrációban volt jelen. (Mohekar et al., 2017a; Mohekar et al., 2017b).

A fentiek alapján kijelenthető, hogy az általam fejlesztett módszer alkalmas az érzékszervi küszöbértéknek megállapított koncentráció tartományban jelen lévő T2D kimutatására és mennyiségi mérésére bormintákból.

Schillingger Tibor

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Diplomamunkámat Farkas Bence szakdolgozatának folytatásaként kezdtem el, amelynek során az ázsiai márványospoloska, egy Kelet-Ázsiából származó invazív rovar faj szaganyagának meghatározására alkalmas HS-SPME-GC-MS mérési módszer fejlesztettem ki, mely alkalmas a „poloskaszagért felelős” transz-2-decénal kimutatására és félkvantitatív, esetleg kvantitatív meghatározására modell- és valódi bormintákból. Célkitűzéseim között szerepelt a T2D és tridekán vegyületek kromatográfiai paramétereinek meghatározása és optimalizálása standard oldatokból, retenciós idők megállapítása, megfelelő belső standard kiválasztása. Megállapítottam a „poloskaszagra vak” bor illékony komponenseit, majd erre a vakborra addicionáltam a 3 mérendő komponenst. A SCAN módban mért komponensek retenciós idejük és 2-2 legintenzívebb fragmens ionjaik alapján megírtam a módszer SIM változatát, a továbbiakban ezt a módot alkalmaztam annak nagyobb érzékenysége miatt. A módszerfejlesztés során meghatároztam a 3 kérdéses vegyülethez tartozó retenciós időket, majd megvalósítottam modellborban történő monokomponenses és szimultán mérésüket, egyre kisebb és kisebb koncentrációban. Megállapítottam, hogy a módszer alkalmas a poloskaszagért elsősorban felelős T2D kimutatására és mennyiségi mérésére a megállapított 5 ppb-s érzékszervi küszöbérték koncentráció tartományban.

A fejlesztett módszer validálása kapcsán linearitás vizsgálatot végeztem, meghatároztam a T2D-re vonatkozó kimutatási határt és meghatározási határt, illetve az ismételhetőséget és a reprodukálhatóságot. A linearitás vizsgálat során megállapítottam, hogy a vizsgált 2,5-50 ppb koncentráció tartományban lineárisnak tekinthet az összefüggés a T2D koncentráció és a mért jel között, a kalibrációs pontok jó illeszkedést mutattak a felállított egyenesre. A T2D mérésének kimutatási határát 1 ppb-nek mértem, a meghatározási határt pedig 2,5 ppb-nek, ami figyelembe véve az 5 ppb érzékszervi küszöbkoncentrációt, alkalmassá teszi a módszert mennyiségi meghatározásra is. A T2D koncentráció mérésére vonatkozó ismételhetőséget 10-20 %-os relatív szórás értékkel jellemezhetjük, a reprodukálhatóságot pedig 14-16%-os RSD%-al, ami elfogadottnak és általánosnak tekinthető egy SPME technikával kombinált mérés technika esetében.

Végül a fejlesztett és részben validált módszer segítségével 3 „poloskaszaggal” különböző mértékben szennyezett valódi bormintát analizáltam. A kontroll (poloskaszaggal nem szennyezett) bormintához képest emelkedett T2D koncentrációt mértem az 1, illetve 3 poloskás bormintában, de ezek a koncentráció értékek a módszer kimutatási határa alá estek. Megállapítottam, hogy a fejlesztett HS-SPME-GC-MS módszer alkalmas az emberi orr által

már éppen érezhető kb. 5 ppb-s koncentrációban jelenlévő T2D kimutatására és mennyiségi mérésére.

Schillingger Tibor

7. IRODALOMJEGYZÉK

1. AGRARSZEKTOR.HU. (2020): Kétségbeesetten keresik a megoldást a termelők az ázsiai márványpoloska ellen. *AGRARSZEKTOR*. [ONLINE]
Available at: <https://www.agrarszektor.hu/noveny/20200530/ketsegbeesetten-keresik-a-megoldast-a-termelok-az-azsiai-marvanypoloska-ellen-22094>
[Hozzáférés dátuma: 2022.10.17]
2. Bak, I., 2011. Műszeres analitikai technikák a gyógyszerészi és bioanalitikai vizsgálatokban. Debrecen: ISBN.
3. Baldwin, R. L., Zhang, A., Fultz, S. W., Abubeker, S., Harris, C., Connor, E. E., Van Hekken, D. L. (2014): Hot topic: Brown marmorated stink bug odor compounds do not transfer into milk by feeding bug-contaminated corn silage to lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 97(4): 1877-1884. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7545>
4. Bariselli, M., Bugiani, R., Maistrello, L. (2016). Distribution and damage caused by *Halyomorpha halys* in Italy. *EPPO Bulletin*. 46(2): <https://www.doi.org/10.1111/epp.12289>.
5. Borges, M., Aldrich, J.R. (1992): Instar-specific defensive secretions of stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae). *Experientia* 48: 893–896. <https://doi.org/10.1007/BF02118429>
6. Blum, M. S., Traynham, J. G., Chidester, J. B., & Boggus, J. D. (1960). n-Tridecane and trans-2-Heptenal in Scent Gland of the Rice Stink Bug *Oebalus pugnax* (F.). *Science*, 132(3438), 1480–1481. <https://doi.org/10.1126/science.132.3438.1480>
7. Callot, H., Brua, C. (2013): *Halyomorpha halys* (Stål, 1855), la Punaise diabolique, nouvelle espèce pour la faune de France (Heteroptera Pentatomidae). *L'Entomologiste*. 69(2), 69-71.
8. Costi, E., Haye, T., Maistrello, L. (2017): Biological parameters of the invasive brown marmorated stink bug, *Halyomorpha halys*, in southern Europe. *Journal of Pest Science*. 90. <https://www.doi.org/10.1007/s10340-017-0899-z>
9. Dazzini M.V. and P.V. Finzi. 1974. Chemical known constituents of arthropod defensive secretions. *Atti Accad Naz Lincei Fascicola* 3:107–146.

10. Delbac, L., Rouzes, R., Hamidi, R., Thiéry, D. (2022): First occurrence of *Halyomorpha halys* in Bordeaux vineyards. *OENO One*. 56(1), 253–257.
<https://doi.org/10.20870/oeno-one.2022.56.1.5395>
11. Dioli, Paride., Leo, Piero., Maistrello, Lara. (2016): Prime segnalazioni in Spagna e in Sardegna della specie aliena *Halyomorpha halys* (Stål, 1855) e note sulla sua distribuzione in Europa// Primera cita para España y Cerdeña de la especie invasora *Halyomorpha halys* (Stål, 1855 (Hemiptera, Pentatomidae). *Revista gaditana de Entomología*. 7. 539-548.
12. Eperjesi I., Kállay M., Magyar I. (2010): Borászat. – Mezőgazda Kiadó, Budapest
13. Farkas B. (2021): SPME-GC-MS módszer fejlesztése poloskaszag meghatározására bor mintából. *Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem (MATE)*, szakdolgozat
14. Faster, K., Gordon S. (2016): Brown Marmorated Stink Bug Has A Broad Appetite. *Wiscontext*. [ONLINE]
Available at: <https://www.wpr.org/brown-marmorated-stink-bug-has-broad-appetite>
[Hozzáférés dátuma: 2022.10.15.]
15. Galbács G., Galbács Z., Sipos P. (2003): Műszeres analitikai kémiai gyakorlatok. *JATEPress*.
16. Galbács, G., Ilisz, I., Felinger, A. & Csóka, B., 2012. Illusztrált segédanyag a modern műszeres analitikai kémia oktatásához. 2013 szerk. Szeged: TÁMOP.
17. Gibb, R. (2012): Ladybugs Blamed For Wine Taint:
<https://www.wine-searcher.com/m/2012/04/we-need-to-talk-about-ladybugs>
18. Heckmann, R. (2012): Erster Nachweis von *Halyomorpha halys* (Stal, 1855) (Heteroptera: Pentatomidae) für Deutschland. *Heteropteron*. 36.
19. Horváth Cs. (2020): Mindent kipróbálnak az ázsiai márványospoloska ellen. *Magyarmezogazdasag*. [ONLINE]
Available at: <https://magyarmezogazdasag.hu/2020/05/25/mindent-kiprobálnak-az-azsiai-marvanyospoloska-ellen>
[Hozzáférés dátuma: 2022.10.15.]
20. Internet 1. Ázsiai márványospoloska <https://www.biokutatas.hu/hu/page/show/bio-megoldasok-poloskak-ellen>
21. Internet 2. Kalcium hiány okozta gyümöleshús-foltosodás almán
https://www.agroinform.hu/kerteszet_szoleszet/alma-almafa-gyumolcs-kert-kerteszet-51882-001

22. Internet 3. Magyarország poloskatérképe.
<https://magyarmezogazdasag.hu/2020/11/12/poloskahelyzet-van-sokk-rovar>
23. Internet 4. Borok általános összetétele (%) <https://borokos.hu/bortanfolyam/mi-a-bor/>
24. J Insect Physiol. 1974 Jul;20(7):1231-48. Structure of sensilla, olfactory perception, and behaviour of the bedbug, *Cimex lectularius*, in response to its alarm pheromone
 H Z Levinson, A R Levinson, B Müller, R A Steinbrecht doi
[https://doi.org/10.1016/0022-1910\(74\)90229-7](https://doi.org/10.1016/0022-1910(74)90229-7)
25. Kment, P., Salini, S., Rédei D., Rider, D. (2021): *Halyomorpha halys* fixed as the type species of the genus *Halyomorpha* (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae). *ACTA ENTOMOLOGICA*. 61(2): 615-630. figs. 1-3.
26. Kontschán J. (2019). A márványos poloska. *Természetbúvár*. 74(3): 35-37
27. Kost, C. (2008): Chemical Communication. *Encyclopedia of Ecology*. 557-575.
<https://doi.org/10.1016/B978-008045405-4.00036-7>
28. Lockwood, J. A., Story, R. N. (1985): Bifunctional Pheromone in the First Instar of the Southern Green Stink Bug, *Nezra viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae): Its Characterization and Interaction with Other Stimuli. *Annals of the Entomological Society of America*. 78(4): 474-479. szerk. Louisiana: Louisiana State University Agricultural Center. <https://doi.org/10.1093/aesa/78.4.474>
29. Macavei, L., Bâeț, R., Oltean, I., Florian, T., Mircea Ioan, V., Costi, E., Maistrello, L. (2015): FIRST DETECTION OF *Halyomorpha halys* Stål, A NEW INVASIVE SPECIES WITH A HIGH POTENTIAL OF DAMAGE ON AGRICULTURAL CROPS IN ROMANIA. *Lucrări Științifice*. 58. 105-108
30. Maistrello, L., Dioli, P., Bariselli, M., Mazzoli, G., Forini Giacalone, I. (2016): Citizen science and early detection of invasive species: phenology of first occurrences of *Halyomorpha halys* in Southern Europe. *Biological Invasions*. 18. 10.1007/s10530-016-1217-z.
31. Marcelo, R., Carol, H. C., Carla, B. G. B. (2006): Validation of chromatographic methods: Evaluation of detection and quantification limits in the determination of impurities in omeprazole. *Journal of Chromatography*, 1156 (2007) 201-205. p.
32. Menedzsment fórum (2016): Márványpoloska, a kártékony új faj Magyarországon.
Mfor. [ONLINE] Available at:
https://mfor.hu/cikkek/vallalatok/Marvanypoloska_a_kartekony_uj_faj_Magyarorszagon.html

- [Hozzáférés dátuma: 2022.10.17]
33. Mohekar, P., (2016). Brown Marmorated Stink Bug (BMSB), *Halyomorpha halys* Taint in Wine. 2017 szerk. Oregon: Oregon State University.
 34. Mohekar, P., Lapis, T. J., Wiman, N. G., Lim, J., Tomasino, E. (2017a): Brown Marmorated Stink Bug Taint in Pinot noir: Detection and Consumer Rejection Thresholds of trans-2-Decenal. *American Journal of Enology and Viticulture*. 68: 120-126. <https://doi.org/10.5344/ajev.2016.15096>
 35. Mohekar, P., Osborne, J., Wiman, N. G., Walton, V., Tomasino, E. (2017b): Influence of Winemaking Processing Steps on the Amounts of (E)-2-Decenal and Tridecane as Off-Odorants Caused by Brown Marmorated Stink Bug (*Halyomorpha halys*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 65(4): 872-878 <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04268>
 36. Nagy L. (2020): A *Halyomorpha halys* (ázsiai márványospoloska) hatása a fehér- és vörösborok érzékszervi minőségére. Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem (MATE), szakdolgozat.
 37. NÉBIH: Borhibákról és borbetegségekről. *portal.nebih.gov*. [ONLINE] Available at: <https://portal.nebih.gov.hu/-/borhibakrol-es-borbetegsegekrrol> [Hozzáférés dátuma: 2022.10.20]
 38. Pawliszyn, J. & Arthur, C. L., 1990. Solid Phase Microextraction with Thermal Desorption Using Fused Silica Optical Fibers. *Analytical Chemistry*, pp. 2145-2148
 39. Pickering, Gary J. and Botezatu, A.: A Review of Ladybug Taint in Wine: Origins, Prevention, and Remediation; *Molecules*. 2021 Jul; 26(14): 4341. <https://doi.org/10.3390/molecules26144341>
 40. Sereshti, H., Duman, O., Tunç, S. et al. (2020): Nanosorbent-based solid phase microextraction techniques for the monitoring of emerging organic contaminants in water and wastewater samples. *Microchim Acta*. 187(541). <https://doi.org/10.1007/s00604-020-04527-w>
 41. Sigma-Aldrich Co. (1999): Solid Phase Microextraction Fiber Assemblies. *sigmaaldrich*. <https://www.sigmaaldrich.com/deepweb/assets/sigmaaldrich/marketing/global/documents/561/886/t794123.pdf>
 42. Sigma-Aldrich Co (2022): Solid Phase Microextraction (SPME). *sigmaaldrich*. [ONLINE]

Available at: <https://www.sigmaldrich.com/HU/en/applications/analytical-chemistry/sample-preparation/solid-phase-microextraction>

[Hozzáférést dátuma: 2022.10.22]

43. Simov, N. (2016). The invasive brown marmorated stink bug *Halyomorpha halys* (Stål, 1855) (Heteroptera: Pentatomidae) already in Bulgaria. *Ecologica Montenegrina*. 9. 51-53. 10.37828/em.2016.9.8.
44. Solomon, D., Dutcher, D., Raymond, T. (2013): Characterization of *Halyomorpha halys* (brown marmorated stink bug) biogenic volatile organic compound emissions and their role in secondary organic aerosol formation. *J Air Waste Manag Assoc*. 63(11): 1264-1269. <https://doi.org/10.1080/10962247.2013.819047>
45. Staddon, B. W., Thorne, M. J. (1979): The metathoracic scent gland system in Hydrocorisae (Heteroptera: Nepomorpha). *Systematic Entomology*. 4(3): 239-250. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3113.1979.tb00641.x>
46. Staddon Bian W 1979. The scent glands of Heteroptera, Zoology Department, University College, Cardiff Wales [https://doi.org/10.1016/S0065-2806\(08\)60055-7](https://doi.org/10.1016/S0065-2806(08)60055-7)
47. Szalai N. (2006): A bor kémiai összetétele. *Boraszportal*. [ONLINE]
Available at: https://www.boraszportal.hu/hirszuret/a_bor_kemiai_osszetetele-95
[Hozzáférés dátuma: 2022.10.20]
48. Szanyi Sz., Ósz A., Szanyi K., Potish, L., Nagy A. (2022): The distribution of brown marmorated stink bug (*Halyomorpha halys* (Stål, 1855); Hemiptera: Pentatomidae) in the Northeast part of the Carpathian Lowland (West Ukraine). *Acta Agraria Debreceniensis*. (1), 191–194. <https://doi.org/10.34101/actaagrar/1/10831>
49. Tomasino, E., Mohekar, P., Lapis, T., Walton, V., Lim, J. (2013): Effect of Brown Marmorated Stink Bug on Wine - Impact to Pinot noir Quality and Threshold determination of taint compound trans-2-decenal.
50. Véték G., Papp V., Haltrich A., Rédei D. (2014): First record of the brown marmorated stink bug, *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae), in Hungary, with description of the genitalia of both sexes. *Zootaxa*. 3780. 194-200. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3780.1.8>.
51. Véték, G., 2016. Az ázsiai márványospoloska (*Halyomorpha halys*). ResearchGate, pp. 42-47.
52. VG. (2020): Elkészült Magyarország poloskatérképe. *Világgazdaság*. [ONLINE]

Available at: <https://www.vg.hu/kozelet/2020/11/elkeszult-magyarorszag-poloskaterkepe>

[Hozzáférés dátuma: 2022.10.18]

53. Wermelinger, B., Wyniger, D., Forster, B. (2007): First records of an invasive bug in Europe: *Halyomorpha halys* Stal (Heteroptera: Pentatomidae), a new pest on woody ornamentals and fruit trees?. *Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft*. 81: 1-8.

Schillingger Tibor

8. ÁBRAJEGYZÉK

1. ábra: ázsiai márványospoloska (Internet 1.)	6
2. ábra: Kalcium hiány okozta gyümölcsbőr-foltosodás almán (Internet 2.).....	7
3. ábra: Magyarország poloskatérképe (2020.) (Internet 3.)	8
4. ábra: Rovar hátoldali bűzmirigyéből távozó szaganyag (Kment et al., (2021)).....	10
5. ábra: Kifejlett H. halys bogárban talált vegyületek relatív mennyiségei fulladós és részleges mirigyexponáció mellett (Solomon, et al., 2013)	11
6. ábra: Magyarországon befogott poloska által kibocsátott szaganyag kromatogramja (Farkas, 2021)	12
7. ábra: Borok általános összetétele (%) (Internet 4.)	13
8. ábra: Módszer hőmérsékletprogramja (Mohekar et al., 2017)	16
9. ábra: GC-MS sematikus ábrája EI ionforrással és kvadrupol analizátorral (Kim, I.-Y., Suh, S.-H., Lee, I.-K., & Wolfe, R. R. (2016)).....	18
10. ábra: SPME mintavételi technikák (Sereshti, 2020)	19
11. ábra: Módszer fűtési programja.....	22
12. ábra: 3-oktanol standard vegyület scan üzemmódban felvett TIC kromatogramja.....	25
13. ábra: Transz-2-decénal standard vegyület scan üzemmódban felvett TIC kromatogramja	25
14. ábra: Tridekán standard vegyület scan üzemmódban felvett TIC kromatogramja.....	26
15. ábra: HS-SPME mintavétel bormintából.....	26
16. ábra: Vakbor scan üzemmódban felvett TIC kromatogramja	27
17. ábra: 1 ppm T2D-vel addicionált bor scan üzemmódban felvett TIC kromatogramja.....	27
18. ábra: 1 ppm koncentrációban 3-oktanolal addicionált modellbor minta és a bor saját mátrixából származó etil-hexanoát közeli elúciója	28
19. ábra: 1 ppm tridekánal addicionált bor scan üzemmódban felvett TIC kromatogramja	29
20. ábra: 3 mérendő vegyület szimultán mérésekor kapott TIC kromatogram modellbor mintából	30
21. ábra: 3-oktanol, T2D, Tridekán borban 1 ppm.....	30
22. ábra: 3-oktanol, T2D, Tridekán azonosítása bormátrixban (1 ppm)	31
23. ábra: 3-oktanol legintenzívebb fragmens ionjai	31
24. ábra: T2D legintenzívebb fragmens ionjai	32
25. ábra: Tridekán legintenzívebb fragmens ionjai	32
26. ábra: 10 ug/l koncentráció szinten 3 komponenssel addicionált modell vak bor minta SIM üzemmódban felvett kromatogramja.....	33
27. ábra: Linearitás vizsgálat a T2D komponensre vonatkozóan SIM detektálást alkalmazva	34
28. ábra: T2D/3-oktanol linearitás kalibrációs görbe (SIM)	35
29. ábra: T2D LOD értékének vizuális módon történő becslése.....	36
30. ábra: T2D LOQ értékének vizuális módon történő becslése.....	36
31. ábra: 0 poloskás borra épített mátrix illesztett T2D kalibrációs egyenese	40

9. TÁBLÁZATJEGYZÉK

1.táblázat: SPME szál típusok (Sigma-Aldrich Co., 1999).....	20
2.táblázat: Állófázisok kondicionálási paraméterei.....	20
3. táblázat: Anyagok listája	21
4. táblázat: Eszközök, berendezések paraméterei	22
5. táblázat: A linearitás vizsgálathoz elkészített oldatok összeállítása.....	24
6. táblázat: Mátrixillesztett kalibráció és valódi poloskával szennyezett borminták összemérése... 24	
7. táblázat: Bor mátrixban vizsgált komponens retenció idők.....	29
8. táblázat: Standardok legintenzívebb fragmens ionjai.....	32
9. Táblázat: Csúcs alatti területek (SIM)	35
10. Táblázat: 1. napon kapott ismételtetőségi eredmények (TIC).....	37
11. Táblázat: A legintenzívebb fragmens ionokra 1. napon kapott ismételtetőségi eredmények.... 38	
12. táblázat: Ismételtetőségi eredmények második alkalommal mért párhuzamos mintákra vonatkozóan TIC-ben mért adatok alapján számolva	38
13. táblázat A legintenzívebb fragmens ionokra kapott ismételtetőségi eredmények második alkalommal mért párhuzamos mintákra vonatkozóan.....	38
14. táblázat: Reprodukálhatóság vizsgálata során TIC és SIM módban mért csúcs alatti területek segítségével számolt adatok	39
15. táblázat: A 0 poloskás borra épített mátrix illesztett kalibráció során kapott csúcs alatti terület adatok	40
16. táblázat: Valódi minták T2D koncentráció számítása a legintenzívebb fragmens ionok csúcs alatti területei alapján	40

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálával tartozom Tatár Zsuzsának és Brózik Eszternek, valamint a NÉBIH-BAII munkatársainak, akik nélkül a dolgozat nem tudott volna megszületni. Az a lehetőség, amit a műszerhasználattal nyújtottak számomra, valamint mind az az idő, amit a támogatásomra szántak, nagyon nagy segítség volt, hogy diplomadolgozatom létrejöheszen.

Köszönöm a támogatást az Élelmiszerkémia és –Analitika Tanszék több dolgozójának, Dr. Geréné dr. Radványi Dalma Tanárnőnek segítségét az SPME és a GC-MS technikákhoz kapcsolódó kérdéseim, felmerülő problémáim megoldásában.

Végül, de nem utolsó sorban szeretném kifejezni köszönetemet témavezetőimnek Dr. Üveges Márta és Jókainé Dr. Szatura Zsuzsanna Tanárnőknek, akik a diplomadolgozat során adott hasznos ötleteiket, támogatásukat és jó tanácsaikat támogattak engem. Köszönöm, hogy részt vehettem a kutatócsoport munkásságában, rengeteg tapasztalatot szereztem gyakorlatban mind az SPME módszer, mind a GC-MS technika területein. Megtanulhattam, hogy miként működik egy kapcsolt analitikai rendszer, esetleges hiba esetén miként lehet a műszert megjavítani, de leghasznosabb tudást magában a GC-MS műszer használatában kaptam Tanárnőektől, mindenek előtt módszerírás, módszerfejlesztés, szekvencia szerkesztés, paraméterek megismerése, azok átírása. Hálás vagyok, hogy a kutatómunkát átölelő sok viszontagság ellenére is végig kitartóan mellettem álltak, támogattak a végsőkig, akár a kutatócsoportos pályázatot, akár magát a teljes diplomamunka folyamatát tekintve. Köszönöm a biztató szavakat, amik erőt adtak a diplomadolgozatom megírásának befejezéséhez.

11. NYILATKOZATOK

NYILATKOZAT

a diplomadolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: SCHILLINGER TIBOR
A Hallgató Neptun kódja: W4OXAE
A dolgozat címe: Módszerfejlesztés poloskával szennyezett magyar borok aromarontó komponenseinek feltérképezésére HS-SPME-GC-MS technikával
A megjelenés éve: 2022.
A tanszék neve: Élelmiszerkémia és -Analitika Tanszék

Kijelentem, hogy az általam benyújtott diplomadolgozat egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, s az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

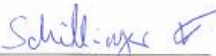
Ha a fenti nyilatkozattal valótlan állítottam, tudomásul veszem, hogy a Záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.

Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkor szellemi tulajdonkezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem könyvtári repozitori rendszerébe.

Kelt: 2022. év 10. hó 25. nap


Hallgató aláírása

KONZULTÁCIÓS NYILATKOZAT

Schillinger Tibor (W4OXAE) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a záródolgozatot/szakdolgozatot/diplomadolgozatot/portfólió¹ áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A záródolgozatot/szakdolgozatot/diplomadolgozatot/portfóliót a záróvizsgán történő védeésre javaslom / nem javaslom².

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem³

Kelt: Budapest év október hó 27. nap


Belső konzulens

¹ A megfelelő dolgozattípus meghagyása mellett a többi típus törlendő.

² A megfelelő aláhúzendő.

³ A megfelelő aláhúzendő.