

DEBRECENI EGYETEM

KERPELY KÁLMÁN DOKTORI ISKOLA

Doktori Iskola vezető:

Prof. Dr. Nagy János

egyetemi tanár, MTA doktora

Témavezető:

Prof. Dr. Kovács Béla

egyetemi tanár

**NYERS ÉS EXTRAHÁLT PROPOLISZOK ELEMERTARTALMI VIZSGÁLATA
ÉS FÖLDRAJZI EREDET SZERINTI AZONOSÍTÁSA**

Készítette:

Soós Áron

doktorjelölt

Debrecen

2020

NYERS ÉS EXTRAHÁLT PROPOLISZOK ELEMTARTALMI VIZSGÁLATA ÉS FÖLDRAJZI EREDET SZERINTI AZONOSÍTÁSA

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
a növénytermesztési és kertészeti tudományok tudományágban

Írta: Soós Áron, okleveles élelmiszerbiztonsági és -minőségi mérnök

Készült a Debreceni Egyetem, Kerpely Kálmán Doktori Iskolája
(Növénytermesztési és kertészeti tudományok doktori programja) keretében

Témavezető: Prof. Dr. Kovács Béla, egyetemi tanár

A doktori szigorlati bizottság:

	név	fokozat
elnök:	<u>Prof. Dr. Csapó János</u>	<u>DSc</u>
tagok:	<u>Dr. Murányi Zoltán</u>	<u>PhD</u>
	<u>Dr. Prokisch József</u>	<u>PhD</u>

A doktori szigorlat időpontja: 2019.06.21.

Az értekezés bírálói:

név	fokozat	aláírás
_____	_____	_____
_____	_____	_____

A bírálóbizottság:

	név	fokozat	aláírás
elnök:	_____	_____	_____
tagok:	_____	_____	_____
	_____	_____	_____
	_____	_____	_____
titkár:	_____	_____	_____

Az értekezés védésének időpontja: 20.....

TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	3
1. BEVEZETÉS.....	4
2. CÉLKITŰZÉSEK.....	6
3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	7
3.1. A propolisz.....	7
3.1.1. A propolisz általános jellemzése.....	7
3.1.2. A propolisz forrása és gyűjtése	7
3.1.3. A propolisz méhek általi felhasználása	9
3.1.4. A propolisz hatása az emberek egészségére.....	10
3.1.5. A propolisz élelmiszeripari felhasználási lehetőségei	11
3.1.5.1. A propolisz, mint „nutraceutical”	11
3.1.5.2. A propolisz egyéb élelmiszeripari felhasználási lehetőségei	13
3.1.6. A nyers propoliszok kémiai összetétele.....	14
3.1.6.1. A nyers propoliszok szerves komponensei, illetve a mennyiségüket befolyásoló tényezők.....	14
3.1.6.2. A nyers propoliszok szervesetlen komponensei, illetve a mennyiségüket befolyásoló tényezők.....	16
3.1.7. A propolisz-tartalmú termékek elemösszetétele	22
3.2. A földrajzi és botanikai eredetazonosítás	24
3.2.1. A földrajzi és botanikai eredetazonosítás jelentősége és lehetőségei.....	24
3.2.2. A propoliszok földrajzi és botanikai eredetének azonosítása.....	28
4. ANYAG ÉS MÓDSZER	30
4.1. A felhasznált vegyszerek	30
4.2. A propolisz minták.....	30
4.3. A propolisz kivonatok készítése	32
4.4. A nyers propoliszok roncsolása	34
4.5. A propolisz kivonatok roncsolása	35
4.6. Az elemtartalom-meghatározás	36
4.7. A labortisztaság és a kimutatási határ kapcsolata	37
4.8. Az összes fenolos vegyület meghatározása.....	39
4.9. A flavonoid-tartalom meghatározása	39
5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK	41
5.1. A minta-előkészítési és mérési módszer értékelése	41
5.1.1. A kimutatási és meghatározási határok, a tisztaság és a keresztszennyezés....	41
5.1.2. Pontosság ellenőrzése spike-visszaméréssel.....	44

5.1.3.	Pontosság ellenőrzése referenciamintákkal.....	45
5.1.4.	Megismételhetőség.....	47
5.1.5.	Reprodukálhatóság.....	48
5.1.6.	Rendszeralkalmasság.....	49
5.1.7.	A mintaátbocsátási képesség és a „zöld kémia”.....	50
5.2.	A nyers propoliszok elemtartalmi összetétele.....	51
5.2.1.	A nyers propoliszok elemkoncentrációinak statisztikai jellemzői.....	51
5.2.2.	A nyers propoliszokban az elemek koncentráció szerinti sorrendje.....	55
5.2.3.	A vizsgált nyers propoliszok elemtartalmának összehasonlítása irodalmi adatokkal.....	57
5.2.4.	A nyers propoliszok földrajzi eredetének azonosítása.....	60
5.3.	A tinktúrakészítés hatása a propolisz tinktúrák összetételére.....	70
5.3.1.	Az elemkoncentrációk változása az idő és a kivonó közeg összetétele függvényében.....	71
5.3.2.	Az elemtartalom változása az extrakciós idő függvényében.....	83
5.3.3.	Az elemtartalom csökkenésének, illetve növekedésének lehetséges magyarázata.....	84
5.3.4.	A tinktúrában mért szárazanyag-, polifenol- és flavonoid-tartalom.....	85
5.3.5.	A flavonoidok és az elemtartalom közötti összefüggés.....	88
5.3.6.	A koncentráció változása a kivonóközeg térfogatának függvényében.....	92
5.4.	Propolisz tinktúrák elemtartalmi összetétele.....	94
5.4.1.	A nyers propolisz elemtartalmának átviteli határfoka (TC) a tinktúrába.....	94
5.4.3.	A tinktúrák elemösszetétele.....	100
5.4.4.	A nyers propolisz elemösszetételének meghatározása a tinktúra alapján.....	101
6.	KÖVETKEZTETÉSEK.....	106
7.	ÖSSZEFOGLALÁS.....	116
8.	SUMMARY.....	121
9.	ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK.....	126
10.	GYAKORLATBAN HASZNOSÍTHATÓ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK.....	128
	IRODALOMJEGYZÉK.....	129
	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	144
	NYILATKOZAT.....	154

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ANOVA	analysis of variances	egytenyezős varianciaanalízis
ASV	anode stripping voltammetry	anódos stripping voltametria
CA	cluster analysis	klaszteranalízis
CDA	canonical discriminant analysis	kanonikus diszkriminancia analízis
CE	catechin equivalent	katechin ekvivalens
ETAAS	electrothermal atomic absorption spectrometry	elektrotermikus atomabszorpciós spektrometria
FAAS	flame atomic absorption spectrometry	lángatomabszorpciós spektrometria
GAE	gallic acid equivalent	galluszsav ekvivalens
GC-MS	gas chromatography mass spectrometry	gázkromatográf-tömegspektrometria
GFAAS	graphite furnace atomic absorption spectrometry	grafitkemencés atomabszorpciós spektrometria
HPLC	high performance liquid chromatography	nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia
ICP-MS	inductively coupled plasma mass spectrometry	induktív csatolású plazma tömegspektrometria
ICP-OES	inductively coupled plasma optical emission spectrometry	induktív csatolású plazma optikai emissziós spektrometria
kNN	K-nearest neighbors	legközelebbi szomszéd elve
LC-MS	liquid chromatography mass spectrometry	folyadékkromatográf-tömegspektrometria
LDA	linear discriminant analysis	lineáris diszkriminancia analízis
LOD	limit of detection	kimutatási határ
LOQ	limit of quantification	meghatározási határ
MAD	median absolute deviation	medián abszolút eltérés
NAA	neutron activation analysis	neutronaktivációs analízis
NIR	near infrared spectroscopy	közeli infravörös spektroszkópia
NMR	nuclear magnetic resonance	magmágneses rezonancia
PC	principal component	főkomponens
PCA	principal component analysis	főkomponens analízis
PLS-DA	partial least square discriminant analysis	parciális legkisebb négyzetek diszkriminancia elemzés
PTFE	polytetrafluoroethylene	poli(tetrafluor-etilén)
QC	quality control	minőség ellenőrzés
RSD	relative standard deviation	relatív szórás
SD	standard deviation	szórás
TC	transfer coefficient	átviteli határfok
TXRF	total reflection X-Ray fluorescent spectrometry	totálreflexiós röntgenfluoreszcens spektrometria

1. BEVEZETÉS

A méhészet ősidők óta létező tevékenység, melynek napjainkban is elengedhetetlen jelentősége van a méhészeti termékek előállításában, illetve a növények beporzásában (Gupta et al., 2014). A méhészeti termékek között kiemelt szerep jut a méznek, mely a leginkább keresett, és legnagyobb mennyiségben termelt és fogyasztott terméke a méhészeteknek (KSH, 2012).

A méhészeti termékeket vizsgáló kutatások jelentős része ezért a méz élettani hatásainak feltárására (Boukraâ, 2014), a hamisítás kimutatására (Tosun, 2013; Wang et al., 2015) vagy a földrajzi és botanikai eredetének azonosítására irányul (Chudzinska és Baralkiewicz, 2010). Ugyanakkor a méz mellett egyéb méhészeti termékek is léteznek, melyek közül a legfontosabbak a virágpor, a méhméreg, a méhpempő, a méhviasz, illetve a propolisz. Ezek ismertsége egyre inkább terjed a fogyasztók körében, mint az apiterápia termékei.

A propolisz kedvező tulajdonságokkal bír az emberi szervezet számára, mivel elsősorban az alkoholban oldható szerves komponenseinek (pl. flavonoidoknak, észtereknek) köszönhetően többek között antioxidáns, gyulladáscsökkentő és antimikrobás tulajdonságokkal rendelkezik. Találkozhatunk vele krémekben, fogkrémekben, kenőcsökben, orrspray-ben, de emberi fogyasztásra alkalmas formában szopogató tablettában, a mézhez keverve, propolisz kivonattal (extraktummal) töltött kapszulaként vagy tinktúraként egyaránt megtalálhatjuk.

Ebből következően a hozzá kapcsolódó tanulmányok főleg a szerves összetételének feltárására, az élettani hatásának megítélésére, illetve az antimikrobás tulajdonságának jellemzésére irányulnak (Kalogeropoulos et al., 2009; Molnár et al., 2017; Anjum et al., 2018). Természetesen más jellegű vizsgálatok is zajlanak, például magyar vonatkozású kutatás foglalkozik a propolisz ezüst nanorészecskékre, mint vivőanyagra történő felvitelével, mellyel javítható a propolisz vízoldhatósága és előnyösebbé válhat a felhasználhatósága (Popova et al., 2018). Ugyanakkor kevés figyelmet fordítottak eddig a propoliszok és a propolisz tartalmú termékek elemösszetételének meghatározására (González-Martín et al., 2018).

A kutatásokból látszik, hogy a propoliszok biológiai aktivitását és szerves komponenseinek összetételét befolyásolhatja azok földrajzi és botanikai eredete, ezért lényeges az eredetének ismerete (Bankova et al., 2000). A földrajzi vagy botanikai eredetazonosítás a hamisítás elkerülésének egyik lehetősége, melynek során valamilyen fizikai vagy kémiai paraméter felhasználásával, analitikai eszközök segítségével,

objektíven beazonosítjuk az adott termék származását, eredetét. Az eredetazonosítás hasznos lehet, ha az élelmiszer földrajzi vagy botanikai eredete befolyásolja a termék minőségét, vagy lényeges szempont a fogyasztók szemében a hazai, vagy éppen egy másik, adott országból származó termék megvásárlása. Gyakran találkozhatunk eredetazonosítási eljárásokkal pl. borok, olívaolajok vagy mézek esetében (Geana et al., 2013; Sayago et al., 2018; Madejczyk és Baralkiewicz, 2008).

Ahogy más növényi, esetleg állati eredetű termékek esetében is, az azonosítás egyik hatékony eszköze lehet a méhszurok elemösszetétele. Másrészt a termék élettani hatásának megítéléséhez hozzátartozik a benne található esszenciális és potenciálisan toxikus elemek koncentrációjának meghatározása. Továbbá elmondható, hogy a propoliszok jó környezeti indikátorokként is szolgálhatnak a környezet szennyezettségének megítélése szempontjából. Mindhárom terület indokolhatja a propoliszok elemösszetételének vizsgálatát, illetve ezeket a célokat kielégíteni képes mintaelőkészítési és mérési módszer kidolgozását.

A propolisz tartalmú termékekre még inkább igaz, hogy az elemösszetétele kevésbé kutatott terület. Kiemelt szerepe van a propolisz tinktúrának, mivel a fogyasztók főleg ezt a terméket ismerik, ezzel találkoznak, amikor propoliszról van szó. A propolisz tinktúra a nyers propolisz oldószerrel, leggyakrabban etanol és víz elegyével készült kivonatot jelenti. Mivel nincs egységes recept a propolisz tinktúra elkészítésére, a nyers propoliszt különböző ideig áztathatják, különböző etanol koncentrációjú és mennyiségű extrahálószerrel. Ugyanakkor nem ismert, hogy az elkészítés milyen hatással van a tinktúra elemösszetételére. Az sem világos, hogy milyen kapcsolat áll fenn a nyers propolisz és a tinktúra elemösszetétele között.

2. CÉLKITŰZÉSEK

Doktori munkám során a nyers propolisz és a propolisz tinktúra elemtartalmi összetételét tanulmányoztam. Célom az volt, hogy a hazai propoliszokat jellemezem szeretlen komponenseik tekintetében, valamint az ország különböző régióiból származó mintákat földrajzi terület szerint azonosítsam. További célom volt, hogy megvizsgáljam a belőlük készített propolisz tinktúrák elemösszetételét, és azt, hogy a tinktúrakészítés során alkalmazott elkészítési technikák hogyan befolyásolják az elemösszetételt. További célul tűztem ki, hogy megállapítsam, miként alakul az átviteli hatások a nyers propoliszból a tinktúrába az egyes elemek esetében. Mindennek a vizsgálatához alkalmas mintaelőkészítési és mérési módszer jellemzőit is értékelni kívántam, hogy eldönthessem, az adott módszer alkalmas-e a feladat teljesítésére.

Az alábbi kérdésekre kerestem választ:

- Milyen módszerrel gyorsítható a mintaelőkészítés? Az általam alkalmazott mintaelőkészítés és a felhasznált műszeres mérés alkalmas-e az elemtartalmi meghatározás elvégzésére a nyers és az extrahált propoliszokban?
- Hogyan alakul a hazai nyers propoliszok elemösszetétele, és milyen mértékben egyezik a külföldi minták eredményeivel?
- Megkülönböztethetőek-e az ország régióiból származó nyers propoliszok az elemtartalmi összetételük alapján, valamint melyek az elkülönítés alapját képező elemek?
- Hogyan befolyásolja a tinktúra elemösszetételét a tinktúrakészítés során az extrakciós idő, a kivonószer etanol koncentrációja, illetve a kivonószer aránya a nyers propoliszhoz képest?
- Milyen kapcsolat áll fenn a tinktúrák flavonoid-tartalma és az elemösszetétele között?
- Hogyan alakul az elemek átviteli hatásfoka a nyers propoliszból a tinktúrába?
- A tinktúra elemösszetétele alapján megállapítható-e az eredeti nyers propolisz elemösszetétele?
- A propolisz tinktúra esetében is alkalmazható-e az eredetazonosítási eljárás elemtartalom alapján?

A felsorolt kérdések megválaszolásán felül célom volt létrehozni egy adatbázist a hazai nyers propoliszok elemösszetételéről.

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1. A propolisz

3.1.1. A propolisz általános jellemzése

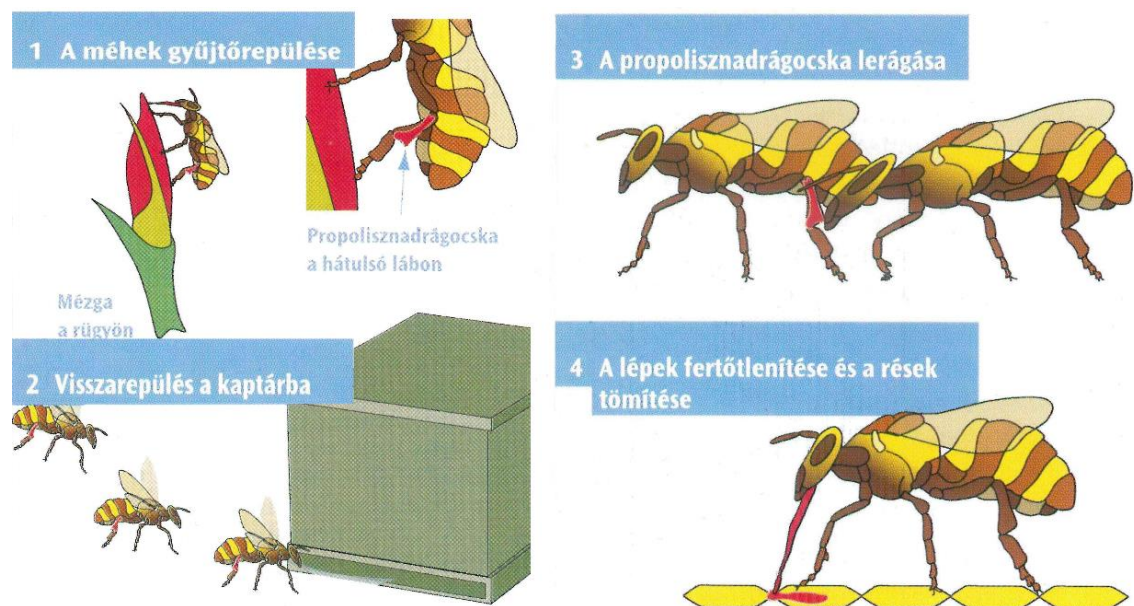
A propolisz vagy méhszurok az *Apis mellifera* L. méhek gyantaszzerű terméke, melyet a növények rügyeiről, leveléről, kérgéről, illetve nedvéből összehordott anyag feldolgozásával állítanak elő (Valencia et al., 2012). A szó a görög pro (előtt, bejárat) és a polis (város, közösség) szavakból ered (Castaldo és Capasso, 2002). A kaptáron belül elsősorban ragasztóanyagként, a kaptár réseinek tömítésére hasznosítja a méhcsalád, valamint azoknak az állatoknak a bebalzsamozására is használják, melyet megöltek a méhek, viszont nem tudtak eltávolítani a kaptárból. Emellett antimikrobiális hatásai is lényegesek a méhek számára (Halmágyi és Keresztesi, 1991). Számos előnyös biológiai hatással rendelkezik, emiatt a népi gyógyászatban több ezer éve alkalmazzák. Kutatások során bizonyították antioxidáns (Guimaraes et al., 2012), gyulladáscsökkentő (Wang et al., 2014), antibakteriális, antivirális, gombaellenes (Kujumgiev et al., 1999) és tumorellenes hatását (Carvalho et al., 2011), valamint májvédő funkcióját (González et al., 1994).

3.1.2. A propolisz forrása és gyűjtése

Korábbi kutatások azt mutatták, hogy a propolisz forrása a mérsékelt égövi zónában (Észak-Amerikában és Európában) elsősorban a nyár, nyír, szil, éger és bükk nemzetség fafajai, a tülevelűek és a vadgesztenye (Ghisalberti, 1979). Halmágyi és Keresztesi (1991) hazánkban elsődleges forrásnövényként a tülevelűeket, a nyár-, nyír-, éger-, cseresznye-, tölgy-, fűz-, szil-, gesztenye- és szilvafafajokat említi. Ugyanakkor Isidorov et al. (2016) tanulmánya azt mutatja, hogy a méhek az európai propoliszok esetében három növényfajt használnak a propolisz forrásaként, a fekete nyárt (*Populus nigra*), a rezgő nyárt (*Populus tremula*), illetve a molyhos nyírt (*Downy birch*). Ugyanakkor korábbi kutatásokkal ellentétben nem használják forrásként az európai bükköt, a kocsányos tölgyet, a magas kőrist, a közönséges nyírt, a vadgesztenyét, a mézgás égert vagy az erdei fenyőt. Azt is megállapították, hogy ha rendelkezésre áll többfajta forrás, akkor jellemzően vegyesen gyűjtenek ezekről a növényekről. Oryan et al. (2018) áttekintésükben összegyűjtötték néhány ország esetében a propoliszok jellemző forrás növényeit. Az európai országok közül Olaszországban és Portugáliában a fekete nyárt, Lengyelországban a nyír, illetve éger fajokat említik.

Ugyanakkor a trópusi területeken más növények is a propolisz forrásának tekinthetők. Hawaiiin a frangipáni nemzetségbe tartozó növények (*Plumeria acuminata* és *Plumeria acutifolia*), Ausztráliában az *Eucalyptus sideroxylon* vagy a *Xanthorrhoea* nemzetségébe tartozó növények, Dél-Amerikában a *Schinus terebinthifolius* vagy a *Psidium guajava* is lehet a forrása (König, 1985). A brazíliai zöld propolisz a *Baccharis dracunculifolia* (Guimaraes et al., 2012), a brazil vörös propolisz a *Dalbergia ecastophyllum* növényfajokhoz köthető (Bueno-Silva et al., 2016).

A gyűjtésre induló méhnek a ragacsos anyag megtalálását követően be kell gyűjtenie azt a kiválasztott növény rügyeiről, leveléről. Ennek négy lépését lehet elkülöníteni. Elsőként a rágó szájszervével eltávolítja a gyantát a növényről (1), formázza, majd a mellső lábára helyezi (2). Ezt követően a középső lábára (3), végül a hátsó lábán lévő pollengyűjtő kosárba rakja (4). Ha ez megtörtént, a gyűjtőhely körül repül néhány kört, valószínűleg a további szükséges, és szállítható gyantamennyiség felmérése céljából. Addig folytatja a gyűjtési folyamatot, míg megtelnek a pollengyűjtő kosarai, ami kb. 15 perc és 1 óra közötti időtartamot vesz igénybe. Visszaérkezve a kaptárhoz, a gyanta eltávolításához a társai segítségére van szüksége. Az eltávolítás ideje változó, 15 percet, 7 órát, 1 éjszakát, de akár 2 napot is igénybe vehet. Ezt a gyantát nem fogyasztják el a méhek, hanem méhviasszal keverik össze, így kialakítva a propoliszt, majd a felhasználás helyére juttatják el a kaptáron belül (Ghisalberti, 1979; Simone-Finstrom és Spivak, 2010; Duke et al., 2016). A gyűjtésének az egyszerűsített menetét az 1. ábra mutatja.



1. ábra: A propolisz gyűjtésének egyszerűsített menete (Pohl, 2005)

3.1.3. A propolisz méhek általi felhasználása

A propoliszal a kaptár belsejét bélelik ki a méhek egy vékony rétegben („propolis envelope”), betömve a réseket, szilárdítva a puhább részeit a kaptárnak, merevítve a lép falát, egyúttal sima felületet kialakítva. Ezáltal megakadályozzák a nedvesség bekerülését kívülről, és védelmet nyújtanak a külső behatolókkal szemben (Ghisalberti, 1979; Borba et al., 2017). Azokat a behatolókat, melyek mégis bejutnak, a méhek igyekeznek elpusztítani. Amennyiben a megölt behatolók tetemét nem tudják eltávolítani, propoliszal veszik körbe, bebalzsamozzák őket. Ilyen állatok lehetnek a lepkék, kisebb csigák, de akár az egerek is (Ghisalberti, 1979; Simone-Finstrom és Spivak, 2010). A propolisz antimikrobás hatása is jelentős, ugyanis erősíti a méhek ellenálló képességét a patogénekkal és a parazitákkal szemben (Borba et al., 2017). Közvetett módon védelmet nyújt a méheket károsító vírusok ellen is azáltal, hogy csökkenti a vírusok legjelentősebb vektorával, azaz kórokozó-átvivőjével, az ázsiai méhatkával (*Varroa destructor*) való fertőzöttséget (Drescher et al., 2017). *In vitro* kísérletekben eredményesen használták az amerikai költésrothadással (*Paenibacillus larvae*) fertőzés mértékének csökkentésére a propolisz etanolos kivonatát (Antúnez et al., 2008; Mihai et al., 2012). Borba és Spivak (2017) *in vivo* körülmények között egyaránt azt tapasztalta, hogy azon méhek esetében, melyeknél a kaptár propolisz réteggel volt borítva, az amerikai költésrothadás tünetei szignifikánsan alacsonyabbak voltak, ahhoz képest, ha ez a réteg a kaptárból hiányzott. Összességében a propolisz javítja a kaptárban lévő méhek immunrendszerét, közösségi immunitást biztosít, ezáltal növeli a raj létszámát és a méztermelés mértékét (Simone-Finstrom et al., 2017). A kaptáron belüli propolisz réteget a 2. ábra szemlélteti.



2. ábra: Propolisz réteg a kaptár belső felületén (Lytchettbayapiarie, 2019.02.01)

3.1.4. A propolisz hatása az emberek egészségére

Nemcsak a méhek, hanem az ember számára is kedvező élettani hatású anyagot jelent a propolisz. A propolisz egy lehetséges gyógyhatású élelmiszernek, vagyis „nutraceutical”-nek tekinthető (Sadhana et al., 2017; Galeotti et al., 2018). A nutraceutical olyan élelmiszer vagy élelmiszer összetevő – mely lehet növényi vagy állati eredetű –, ami gyógyító tulajdonságokkal bír („pharmaceutical”) és bizonyítottan kedvező hatású az egészségre (Santini és Novellino, 2018; Daliu et al., 2019). Napjainkig számos területen bizonyították a méhszurok jótékony élettani hatását.

A propolisz kivonatok antibakteriális hatásukat elsősorban Gram-pozitív baktériumok ellen fejtik ki (pl. *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*) (Chen et al., 2018), de Gram-negatív baktériumokkal szemben is igazolták hatásosságukat (pl. *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) (Castaldo és Capasso, 2002; Ramanauskiene et al., 2013). Továbbá elmondható, hogy antivirális hatással is rendelkezik (Takeda et al., 2018), melyet többek között az influenza (Kai et al., 2014) vagy a 2-es típusú herpesz vírussal (Nolkemper et al., 2010) szemben mutattak ki. Gombaölő hatását eredményesen alkalmazták például *Candida* spp. (Freires et al., 2016) vagy *Penicillium italicum* (Yang et al., 2011) fajokkal szemben. Antimikrobás hatásából adódóan gyakran alkalmazzák a száj higiéniájának fenntartására, javítására (Oda et al., 2016; Peycheva et al., 2018).

Gyulladáscsökkentő hatását számos esetben leírták, pl. brazil (Naito et al., 2007), kínai (Wang et al., 2014) vagy maláj (Nna et al., 2018) propoliszok esetében. A brazil propoliszokban is megtalálható bioaktív komponensek alkalmasak lehetnek gyulladáscsökkentő gyógyszerek hatóanyagaként alkalmazva (Franchin et al., 2018).

Tumorelles hatását bizonyították *in vitro* és *in vivo* kísérletekben egyaránt (Carvalho et al., 2011). Ezt a tulajdonságát elsősorban két összetevőhöz, a kávésav-fenetil-észterhez (CAPE), valamint az Artepillin C komponensekhez kötik (Chan et al., 2013). A propolisz májvédő funkcióját állatkísérletekkel is alátámasztották (González et al., 1994; Nna et al., 2018). A májvédő funkciója elsősorban a propolisz oxidatív stressz elleni hatásából adódik (Tzankova et al., 2019).

A brazil zöld propolisz Costa et al. (2018) szerint hatásos a gyomorfekély kezelésében, valamint előnyösen befolyásolja a bélrendszer működését. Henshaw et al. (2014) ausztrál propoliszok esetében írták le, hogy pozitív hatást gyakorol a diabéteszes lábszárfekély gyógyulására, Cao et al. (2017) pedig kínai propolisz kivonatokat vizsgálva jutott arra a következtetésre, hogy a sebgyógyításban szintén kedvező szerepe van.

Régen ismert ugyanakkor az is, hogy a propolisz egyes esetekben allergiás reakciót, például kontakt dermatitist okozhat (Hausen et al., 1987). Ez a méhészek esetében lehet gyakori (Münstedt és Kalder, 2009), de kötődhet egyéni érzékenységhez a propolisz egyes területfüggő komponenseire is (Yeung és Argüelles, 2019).

A propolisz élettani hatásaival Marcucci (1995), Lotfy (2006), valamint Anjum et al. (2018) áttekintő cikkei foglalkoznak részletesen.

3.1.5. A propolisz élelmiszeripari felhasználási lehetőségei

3.1.5.1. A propolisz, mint „nutraceutical”

A propoliszt ritkán fogyasztják nyers formában, inkább propoliszból készült, annak értékes komponenseit tartalmazó termékekkel találkozhatunk. Az emberi fogyasztásra szánt termékek közt előfordul szopogató tablettákban, kapszulákban vagy étrend-kiegészítőkben, a mézhez keverve, illetve tinktúraként. A propolisz kivonattal töltött kapszula alkalmas lehet arra, hogy állandó kémiai, fiziko-kémiai és mikrobiológiai tulajdonságokkal rendelkező terméket állítsanak elő a propoliszból (da Cruz Almeida et al., 2017). A propolisz kivonattal kevert méz erősíti a méz előnyös élettani hatásait, egyúttal a propolisz élvezeti értékét javítja (Osés et al., 2016). Hasonló jellemzők miatt alkalmazhatják szopogató tablettákban, akár egyéb előnyös összetevők hozzáadásával (Gérez et al., 2017). Ugyanakkor például Magyarországon elsősorban propolisz tinktúraként lehet vele találkozni leggyakrabban. A 3. ábrán néhány ismertebb propolisz-tartalmú termék látható.



3. ábra: A fogyasztók által gyakran használt propolisz-tartalmú termékek: szopogató tablettá (a), propoliszos méz (b), tinktúra (c), kapszula (d) (Melora, 2019.01.30; Bjornscoloradohoney, 2019.01.30; Bee-enhanced, 2019.01.30.; Beehealthyfarms, 2019.01.30.)

A tinktúra általánosságban valamilyen növényi rész (virág, levél vagy gyökér) kivonata, melyet egy kivonószerrel vagy annak keverékével állítanak elő (Malandrino et

al., 2015). A tinktúra alatt a későbbiekben a nyers propoliszból készült kivonatot értem, melyet etil-alkohollal, vízzel vagy ezek keverékével készítene a nyers propoliszból extrakció segítségével.

A tinktúra otthon is elkészíthető, alapanyagként mindössze nyers propolisz és extrahálószer (jellemzően etanol és víz keveréke) szükséges hozzá. Ugyanakkor a tinktúra készítésére nincs általános recept. Néhány fellelhető internetes forrásban (Beepotherapy, 2019.01.15.; Healthywithhoney, 2019.01.15.; Propolisz, 2019.01.15.; Propoliszcsepp, 2019.01.15.; Házimanufaktúra, 2019.01.15.) különböző arányban és időtartamig ajánlják az áztatást, szabad kezet adva a készítőjének. Általában a nyers, korábban aprított vagy porított propoliszt üvegbe kell helyezni és annyi (kb. 5-10-szeres mennyiségű) 60–96% (v/v)-os etanolt kell hozzáadni, hogy az etanol-víz elegy jól ellepje. Az extrahálás kb. 1-2 hétig tart, mely időszak alatt az üveget naponta 1-2 alkalommal össze kell rázni és sötét helyen tartani. A tinktúra akkor van kész, ha az etanol barnás színű lesz, és a nyers propolisz az üveg alján kivilágosodik. Ezután le kell szűrni vagy a felülúszót el kell távolítani.

A szakirodalomban bemutatott kutatások során sincs egységes álláspont a tinktúra elkészítésére vagy annak bepárlásával készült extraktum kinyerésére. Mohammadzadeh et al. (2007) 25 mL 95% (v/v)-os töménységű etanolt adtak grammonként a propoliszhoz és szobahőmérsékleten extrahálták 24 órán át, majd leszűrték, végül rotációs bepárlóban 40°C-on vákuum alatt koncentrálták az oldatot. Santos et al. (2005) 2 g porított propoliszt mértek be, majd keverték össze 80% (v/v)-os etanol koncentrációjú etanol-víz elegyével, és rázatták 30 percig 70°C-on. Slavov et al. (2013) 100 g propoliszt extraháltak 450 mL etanol és 110 mL víz elegyével. A szuszpenziót 48 órán keresztül állni hagyták, majd 1 órán át rázatták, végül leszűrték a tinktúrát. González et al. (1994) 95% (v/v)-os etanollal keverték össze a propoliszt és 48 órán keresztül extrahálták szobahőmérsékleten. Pontin et al. (2008) 100 g propoliszt keverték össze 1000 mL 70% (v/v)-os etanollal és 3 napig hagyták összekeverve szobahőmérsékleten. Ezt követően leszűrték és vákuum alatt bepárolták. Miguel et al. (2010) 1 g propoliszhoz 30 mL 70% (v/v)-os etanolt adtak, 96 órán keresztül rázatták 37°C-on, 200 fordulat per perc sebességű rázatással, szűrték és 10 mL-re párolták be az oldatot. Tylkowski et al. (2010) szintén szobahőmérsékleten végezték az extrakciót 70% (v/v)-os etanollal, ugyanakkor ezt követően membránszűréssel végezték a biológiailag aktív komponensek koncentrációját. A szuszpenzió szétválasztása ezután centrifugálással történt.

Mivel az alkoholos kivonatot bepárlás nélkül nem fogyaszthatják például gyerekek, ezért más kivonószerrel végrehajtott eljárásokat is alkalmaznak az értékes komponensek kinyerésére a nyers propoliszból. Gyakran előfordul, hogy vizes extraktumot készítenek belőle. Nagai et al. (2003) 50 g propoliszt extraháltak ötszörös mennyiségű vízzel 1 napig, majd centrifugálták, a maradékkal pedig megismételték az extrahálást. A tinktúrákat egyesítették, majd dúsították. Miguel et al. (2010) 1 g propoliszt 10 mL vízzel extraháltak 80°C hőmérsékleten, 3 órán keresztül, majd szűrték a keveréket. Chen et al. (2007) vizes-etanolos extrakciós módszert dolgoztak ki 20% (v/v)-os etanollal és 29% (m/m) természetes felületaktív anyag hozzáadásával. Tovább növelte az extrakció hatékonyságát a magas hőmérséklet és a megnövelt nyomás. Chen et al. (2007) módszere jelentős mennyiségű aktív komponenst (többek között flavonoidokat és fenolos vegyületeket) oldott ki a propoliszból. Carvalho et al. (2011) a propolisz növényi olajjal való extrakcióját írták le. Ennek során 50 g propoliszhoz 500 mL repceolajat adtak, majd 24 órás szobahőmérsékletű extrahálást követően szűrték. Catchpole et al. (2004) szuperkritikus állapotú CO₂ és etanol felhasználásával extrahálták a propoliszt. A nagy nyomású CO₂ és az etanol hatására a propoliszból a nagy molekulatömegű komponensek kicsapódtak, és az értékes komponensek az extraktumba kerültek. Második lépésként a létrehozott extraktumot két külön frakcióra választották szét. Az első frakció koncentrált formában a flavonoidokat, a második frakció pedig az esszenciális olajokat és az etanolt tartalmazta.

3.1.5.2. A propolisz egyéb élelmiszeripari felhasználási lehetőségei

Élelmiszerként történő felhasználása mellett voltak próbálkozások a propolisz tartósítás- és csomagolás-technológiai, illetve felületi tisztítóként való felhasználására is. Siripatrawan és Vitchayakitti (2016) kitozánréteget keverték össze propolisz-extraktummal, mely kedvező hatással volt a csomagolóanyag mechanikai tulajdonságaira, oxigén- és páratartalom-visszatartó képességére, valamint antioxidáns és antimikrobás tulajdonságaira egyaránt. Szintén előnyösen befolyásolta a vagdalt marhahús eltarthatóságát, más antimikrobás anyagokkal keverve, annak élvezeti értékét nem rontva (Shavisi et al., 2017). Részben kedvező hatása lehet a szeletelt sonka propolisz-tartalmú csomagolóanyaggal való bevonásának is (Rizzolo et al., 2016). Előnyösen használható a fejes saláta felületi szennyezésének csökkentésére. A mikrobaölő hatékonysága meghaladta a vegyszeres tisztítás (nátrium-hipoklorit) hatását. Ebből következően előnyös tulajdonságokkal rendelkezhet más frissen fogyasztandó

zöltség vagy gyümölcs felületi összcsíraszám csökkentésére (Feás et al., 2014). Pobiega et al. (2018) áttekintő cikke részletesen tárgyalja az egyes kutatásokban tapasztalt eredményeket az élelmiszerekhez hozzáadott propolisz tartósító hatásáról, a felületi kezelések eredményességéről, illetve a propolisz-tartalmú csomagolóanyagok alkalmazhatóságáról. Emellett a cikk foglalkozik a propolisz élelmiszerekre gyakorolt antioxidáns hatásával, valamint az élelmiszerek fizikai, kémiai tulajdonságaival és érzékszervi hatásaival.

3.1.6. A nyers propoliszok kémiai összetétele

3.1.6.1. A nyers propoliszok szerves komponensei, illetve a mennyiségüket befolyásoló tényezők

A propolisz kémiai összetétele rendkívül változatos. Általánosságban elmondható, hogy 50-60% gyantát és balzsamot, 30-40% méhviaszt, 5-10% illóolajat, 5% pollent, illetve egyéb kisebb mennyiségben jelen lévő komponenseket tartalmaz, például vitaminokat és ásványi anyagokat (Barth et al., 2013). Kínai és uruguayi propoliszban $76,9 \pm 2,35\%$ gyantát és balzsamot, $14,8 \pm 2,2\%$ viaszt, $2,37 \pm 0,27\%$ nedvességet, $21,7 \pm 1,29\%$ fenolos komponenst, illetve $0,89 \pm 0,20\%$ illóolajat határoztak meg (Bonvehí és Coll, 2000). Brazil propoliszokban mért eredmények alapján 6,90–9,16% a víztartalmuk, 0,84–10,58% a fehérjetartalmuk, 45,76–74,31% a zsírtartalmuk, a rosttartalmuk pedig 3,44–51,39% közötti (Machado et al., 2016).

Az összetevők mennyiségi meghatározásához leggyakrabban nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiát (HPLC) (Wang et al., 2014; Chen et al., 2018), gázkromatográf-tömegspektrometriát (GC-MS) (Kalogeropoulos et al., 2009; Molnár et al., 2017), illetve folyadékkromatográf-tömegspektrometriát (LC-MS) (Machado et al., 2016; Saftić et al., 2019) alkalmaznak a kutatások során. Az összetételüket részletesebben elemezve Kalogeropoulos et al. (2009) görög és ciprusi propoliszok vizsgálatokor alkoholokat (pl. etilén-glikol, fenetil-alkohol, glicerin), alifás savakat (pl. borostyánkősav, almasav, palmitinsav), aromás gyűrűt tartalmazó savakat (pl. benzoésav, fahéjsav, ferulasav, kávésav, p-kumársav), észtereket (pl. fahéjsav észter, kávésav-fenetil-észter (CAPE), benzil-ferulát), flavonoidokat (pl. pinocembrin, galangin, naringenin, kempferol, kvercetin), antrakinonokat (pl. chrysophanol, emodin), ketonokat (pl. 5-hidroxi-1,7-difenil-3-heptanon), cukrokat (pl. fruktóz, glükóz, mannóz, szacharóz, xilóz), illetve terpéneket (pl. mentol, fitol, izopimársav) mutattak ki a vizsgálatok során. Ugyanakkor az összetétele ennél is szerteágazóbb, ugyanis De Groot et al. (2014) 344 komponenst

gyűjtöttek össze CAS számmal együtt az általuk áttekintett kutatásokból. Ezek a komponensek nyár („poplar”) típusú propoliszokból kerültek kimutatásra.

Magyar vonatkozású kutatások már a '80-as években is foglalkoztak a propolisz szerves anyag összetételének meghatározásával (Nagy et al., 1986; Pápay et al., 1987). Molnár et al. (2017) újabb elemzéséből kiderült, hogy a magyar propoliszok etanolos kivonatának összes polifenol-tartalma 104,6–286,9 mg GAE g⁻¹ közötti, valamint a polifenolok közül a chrysin és a pinocembrin (CAS: 480-40-0 és 480-39-7) volt jelen a legnagyobb mennyiségben bennük, de jelentős volt még a resveratrol, pyrogallol, apigenin és transz-fahéjsav tartalmuk is (CAS: 501-36-0; 87-66-1; 520-36-5 és 140-10-3).

A propoliszok szerves komponenseinek összetételét nagyban befolyásolja a földrajzi eredet, ami elsősorban a növényvilággal és az éghajlattal áll összefüggésben (Bankova et al., 2000; Aliboni, 2014). A brazil propoliszokat földrajzi eredetük alapján 12 csoportba sorolták, amiről elmondható, hogy a csoportokon belül az elsődleges forrásként látogatott növények különbözőek (Park et al., 2002). Megkülönböztetett figyelmet kap a brazil propoliszok közt a vörös, a barna, illetve a zöld propolisz, melyek eltérő növényi eredetűek, illetve részben eltérő összetételűek, és különböző élettani hatással rendelkeznek (Andrade et al., 2017). Értékes forrásnak számít a zöld propolisz, melyet a *Baccharis dracunculifolia* rügyeiről gyűjtenek a méhek. Ez nagy mennyiségben tartalmazza az Artepillin C vegyületet (3,5-diprenil-4-hidroxifahéjsav, CAS: 72944-19-5), ami kiemelkedően kedvező élettani hatással bír (Camuri et al., 2018).

Popova et al. (2007) viszonylag magas mintaszámú (n=114) nyár típusú, bolgár, olasz, svájci, szír, török, és néhány más országból származó, köztük magyar propolisz tinktúrát is elemeztek. Azt tapasztalták, hogy néhány vizsgált paraméterben volt eltérés a különböző országok között, de jelentősebb különbségeket inkább a „mérsékelt övből” és az „északi vagy hegyvidéki” területekről származó minták között tudtak kimutatni. Saftić et al. (2019) szintén különbséget fedeztek fel horvát propoliszok (n=56) között azok flavonoid összetételében, főleg a mediterrán és a kontinentális régió között. Más kutatások során is vizsgálták a különböző földrajzi területekről származó propoliszok kémiai és mikrobiológiai paramétereit, de egy-egy országból alacsony mintaszámmal dolgoztak. Kumazawa et al. (2004) 14 országból származó propoliszt hasonlítottak össze antioxidáns aktivitás, összes fenolos vegyület és flavonoid-tartalom tekintetében. Azt tapasztalták, hogy az argentin, ausztrál, chilei, új-zélandi és magyar propoliszokban magasabb az említett mutatók értéke. Ahn et al. (2007) munkájuk során Kína különböző tartományaiából származó propoliszokat hasonlítottak össze. Azt tapasztalták, hogy két

kivétellel magas antioxidáns aktivitással rendelkeztek a minták, illetve bizonyos fenolos komponenseket csak egy-egy területről származó mintákban tudtak kimutatni. Bankova et al. (2002) bolgár, olasz és svájci propoliszokat vizsgálva megállapították, hogy többségük a nyár jellegű propoliszokra jellemző komponenseket tartalmaznak, ugyanakkor egy-egy svájci és olasz minta ezektől jelentősen eltért, mely valószínűleg más növényi eredetre utal. Choi et al. (2006) brazil és koreai propolisz kivonatokat összehasonlítva azt tapasztalták, hogy a brazil mintának alacsonyabb az antioxidáns aktivitása és a szabadgyökfogyó képessége, mint a koreaiaknak.

Az évszakok hatásának megítélése esetében megoszlanak a kutatások eredményei. Sforcin et al. (2000) azt találták, hogy az évszakok tekintetében nincs szignifikáns különbség a propolisz alkoholos extraktumának mikrobagátló aktivitására. Freitas et al. (2018) kutatásai szintén azt igazolják, hogy 4 éves periódus alatt nem mutatható ki különbség a mikrobagátló hatás vagy az összetétel tekintetében a portugál propoliszokban. Valencia et al. (2012) kutatása ugyanakkor azt mutatta, hogy a főbb kémiai komponensek arányát ugyan nem befolyásolta a gyűjtési ideje, amiből azt a következtetést vonták le, hogy elsősorban ugyanarról a növényről gyűjtötték a méhek a propoliszt, de a biológiai aktivitásában (antioxidáns és sejtburjánzást gátló hatásában) volt különbség az évszakok függvényében. Bueno-Silva et al. (2016) vizsgálatai ugyancsak azt erősítették meg, hogy befolyásolja a propolisz mikrobaellenes aktivitását a gyűjtési ideje, az évjáráthatás. Emellett viszont azt találták, hogy a propoliszban és a gyantában jelen lévő komponensek minőségében ugyan nem, de a koncentrációjában történt változás az 1 éves periódus alatt. Ugyanakkor Kujumgiev et al. (1999) vizsgálatai arra világítanak rá, hogy a propoliszok biológiai aktivitása (antibakteriális és gombaellenes hatása, illetve részben az antiviralitása) független az egyes komponensek mennyiségétől, azt nem lehet egy komponenshez kötni, hanem komplexen fejtik ki hatásukat.

3.1.6.2. A nyers propoliszok szerves komponensei, illetve a mennyiségüket befolyásoló tényezők

A propolisz a szerves komponensek mellett szerves összetevőket is tartalmaz. A szerves összetevők összes mennyiségét jól jellemzi a hamutartalom, mely az izzítás után visszamaradó anyagok összességét jelenti. A horvát propoliszokban mért értékek alapján ez 2,1% (0,57–4,59%) (Cvek et al., 2008). A brazil propoliszokban a hamutartalom 0,86–3,30% között alakult (Machado et al., 2016). A Kínából és

Uruguayból származó propolisz hamutartalma valamivel magasabb volt, átlagosan $3,11 \pm 0,37\%$, a legmagasabb értéként pedig $4,07\%$ -ot mértek (Bonvehí és Coll, 2000).

Az elemtartalom szelektív meghatározására számos technika létezik, mely használható a propoliszok elemösszetételének mérésére. Gyakran alkalmazott multielemes, szimultán vagy kvázi szimultán technikának számít az induktív csatolású plazma optikai emissziós spektrométer (ICP-OES) (Cvek et al., 2008; Gong et al., 2012; Bonvehí és Bermejo, 2013) és az induktív csatolású plazma tömegspektrométer (ICP-MS) (Zhang et al., 2015; Golubkina et al., 2016), melyek gyors és egyszerű mérést tesznek lehetővé, jó kimutatási határokkal. Szintén jó kimutatási határokkal rendelkezik a neutronaktivációs analízis (NAA), ugyanakkor korlátozottabb felhasználási lehetőséggel bír és hosszabb a méréshez szükséges idő (Cantarelli et al., 2011). Szekvens technikák közt elterjedt módszer a lángatomabszorpciós spektrometria (FAAS) (Dogan et al., 2006; Lima et al., 2009), illetve a grafitkemencés atomabszorpciós spektrometria (GFAAS) (Conti és Botrè, 2001; Madras-Majewska és Jasinski, 2003).

Az atom- és szerves tömegspektroszkópiái módszerek ugyan kedvező analitikai teljesítményjellemzőkkel rendelkeznek, ugyanakkor jellemzően destruktív mintaelőkészítést tesznek szükségessé. Gyakran alkalmazzák a zárt rendszerű, mikrohullámmal elősegített roncsolást salétromsavval és hidrogén-peroxiddal, mivel viszonylag gyors előkészítést tesz lehetővé, emellett az elemek illékonyágából adódóan nem kell számítani anyagvesztésre. Jellemzően $0,2\text{--}0,4$ g mintát bemérve $5\text{--}10$ mL HNO_3 és $1\text{--}2$ mL H_2O_2 mellett roncsolják el a nyers propoliszokat (Cvek et al., 2008; Gong et al., 2012; Bonvehí és Bermejo, 2013; González-Martín et al., 2015). Dogan et al. (2006) hamvasztással készítették elő a mintáikat, 1 g propolisz bemérését követően hamvasztókemencében több lépésben 450°C -ig növelve a hőmérsékletet. Ugyanakkor a hamvasztás időigénye és az esetleges analitvesztések miatt napjainkban a zárt rendszerű mikrohullámú előkészítést részesítik előnyben.

Roncsolásmentes módszernek számít a közeli infravörös spektroszkópia (NIR), mely gyors és egyszerű multielemes ellenőrzést tesz lehetővé a toxikus elemekre a propoliszban, ugyanakkor kevésbé szelektív (González-Martín et al., 2015). Olcsóságuk miatt további alternatívát jelenthetnek egy vagy akár több toxikus elem mérésére az elektrokémiai eljárások, pl. az anódos stripping voltammetria (ASV) (Pierini et al., 2013; Pierini et al., 2016). Szintén olcsóbb alternatívát jelent az Pb tartalom mérésére az UV-Vis spektrometria, mely nem mutatott különbséget az elektrotermikus atomabszorpciós spektrometriával (ETAAS) mért értékekkel összehasonlítva (Sales et al., 2006).

1. táblázat: Különböző országokból származó nyers propoliszok elemtartalmi összetétele [átlag (relatív szórás); (minimum-maximum)]

	Dél-Spanyolo. n=25 (Bonvehí és Bermejo, 2013)	Kína n=32 (Gong et al., 2012)	Argentína n=96 (Cantarelli et al., 2011)	Horváto. n=9 (Cvek et al., 2008)	Töröko. n=7 (Dogan et al., 2006)	Moldávia (Ribnitsa régió), n=12 (Golubkina et al., 2016)	Mongólia (Henty régió), n=9 (Golubkina et al., 2016)	Oroszország (Lopatino régió), n=3 (Golubkina et al., 2016)	Chile és Spanyolo., n=9 (González-Martín et al., 2015)
Ag ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	58,3 (12,8) (<50–76)								
Al (mg kg^{-1})	460 (13,5) (308–582)	971 (47,5) (426–1959)		403 (20,2) (154–604)		45,5 (10,1)	175 (9,7)	35,0 (12,0)	275 (43,0–834)
As (mg kg^{-1})	0,0906 (19,4) (<0,075–0,130)	(<LOD–0,920)	(0,02–0,60)	0,08 (2,34) (0,039–3,02)		0,060 (1,5)	0,170 (11,8)	0,060 (16,7)	
B (mg kg^{-1})	7,94 (32,7) (4,21–14,9)			4,4(7,89) (4,42–51,3)		3,92 (9,9)	4,32 (10,0)	2,38 (12,2)	
Ba (mg kg^{-1})				21,8 (4,32) (5,43–124)					
Br (mg kg^{-1})			(0,1–1,50)						
Ca (mg kg^{-1})	3443 (48,6) (1773–6683)	1449 (50,2) (404–2637)		1814 (16,5) (400–3173)	(118–793)	846 (10,0)	1165 (10,0)	384 (12,0)	833 (219–5134)
Cd (mg kg^{-1})	0,0724 (28,5) (0,038–0,110)	0,60 (40,3) (0,240–1,190)		<0,00835		0,050 (14,0)	0,070 (14,3)	0,020 (20,0)	
Ce ($\mu\text{g kg}^{-1}$)			(0,30–2,60)						
Co (mg kg^{-1})	0,29 (89,7) (<0,05–0,84)		(0,06–0,71)			0,070 (14,3)	0,210 (11,9)	0,070 (18,6)	
Cr (mg kg^{-1})	1,42 (50,7) (0,33–2,73)	(<LOD–11,6)	(0,60–3,75)	6,6 (17,99) (<0,668–12,2)		0,46 (10,9)	4,25 (10,1)	0,45 (15,6)	3,7 (0,8–48,9)

	Dél-Spanyolo. n=25 (Bonvehí és Bermejo, 2013)	Kína n=32 (Gong et al., 2012)	Argentína n=96 (Cantarelli et al., 2011)	Horváto. n=9 (Cvek et al., 2008)	Töröko. n=7 (Dogan et al., 2006)	Moldávia (Ribnitsa régió) n=12 (Golubkina et al., 2016)	Mongólia (Henty régió) n=9 (Golubkina et al., 2016)	Oroszország (Lopatino régió) n=3 (Golubkina et al., 2016)	Chile és Spanyolo., n=9 (González- Martín et al., 2015)
Cu (mg kg ⁻¹)	3,45 (19,7) (2,08–4,72)	(<LOD–14,9)		9,4 (6,4) (3,12–62,4)	(4,5–9,6)	1,54 (9,7)	2,70 (10,0)	1,04 (11,5)	1,8 (<0,01–33,4)
Eu (µg kg ⁻¹)			(0,01–0,28)						
Fe (mg kg ⁻¹)	572 (53,0) (312–1270)	1188 (42,8) (310–2125)	(400–1945)	433 (4,5) (138–2509)		134 (9,7)	386 (10,1)	106 (12,3)	425 (46,1–1538)
Hg (µg kg ⁻¹)	8 (31,3) (2–14)			18 (2,2) (3–53)		7 (14,3)	<0,36	<0,36	
I (mg kg ⁻¹)						0,35 (11,4)	0,04 (175)	0,42 (14,3)	
K (mg kg ⁻¹)	2227 (35,0) (735–4790)	1137 (37,5) (314–1894)		986 (2,2) (507–1167)	(121– 364)	990 (10,0)	774 (9,9)	297 (12,1)	979 (267–4428)
La (µg kg ⁻¹)			(0,09–1,18)						
Li (mg kg ⁻¹)						0,060 (15,0)	0,290 (11,7)	0,039 (17,9)	
Mg (mg kg ⁻¹)	814 (39,1) (301–1405)	552 (53,3) (135–1129)		304 (10,6) (101–463)	(237– 502)	145 (10,3)	234 (9,8)	47,5 (12,0)	234 (63,5–1398)
Mn (mg kg ⁻¹)	15,3 (46,8) (6,42–27,1)	36,9 (52,6) (13,0–88,2)		21,6 (6,8) (8,40–82,3)		6,07 (10,0)	10,16 (10,0)	2,97 (12,1)	
Na (mg kg ⁻¹)	159 (20,5) (93–225)	497 (93,2) (42,2–1708)		94,4 (6,0) (31,2–102)	(412– 1416)	51,55 (10,0)	43,82 (10,0)	3,08 (12,0)	
Ni (mg kg ⁻¹)	1,99 (53,8) (0,64–3,65)	(<LOD–2,38)		3,1 (3,2) (<1,00–3,74)		0,41 (12,2)	0,54 (11,1)	0,28 (14,3)	1,5 (<0,01–29,9)
P (mg kg ⁻¹)	404 (38,9) (171–627)					220 (10,1)	321 (10,0)	123 (12,2)	235 (116–729)

	Dél-Spanyolo. n=25 (Bonvehí és Bermejo, 2013)	Kína n=32 (Gong et al., 2012)	Argentína n=96 (Cantarelli et al., 2011)	Horváto. n=9 (Cvek et al., 2008)	Töröko. n=7 (Dogan et al., 2006)	Moldávia (Ribnitsa régió) n=12 (Golubkina et al., 2016)	Mongólia (Henty régió) n=9 (Golubkina et al., 2016)	Oroszország (Lopatino régió) n=3 (Golubkina et al., 2016)	Chile és Spanyolo., n=9 (González-Martín et al., 2015)
Pb (mg kg ⁻¹)	1,47 (76,2) (<0,07–3,75)	19,9 (75,4) (1,67–55,3)		1,64 (4,0) (0,314–64,0)		2,08 (10,1)	16,07 (10,0)	3,18 (11,9)	5,8 (<0,01–73,9)
Rb (mg kg ⁻¹)			(33,8–54,5)						
S (mg kg ⁻¹)	671 (35,2) (394–1373)				< LOD				
Sb (mg kg ⁻¹)	<0,204		(0,04–0,09)						
Se (mg kg ⁻¹)	0,0796 (14,6) (<0,064–0,106)					0,218	0,060	0,213	
Sc (mg kg ⁻¹)			(0,11–0,30)						
Si (mg kg ⁻¹)	694 (15,3) (479–897)					35,15 (10,0)	9,24 (10,0)	120 (11,7)	
Sn (µg kg ⁻¹)	0,0841 (18,2) (0,061–0,112)					0,29 (10,3)	0,12 (8,3)	0,2 (15,0)	
Sm (µg kg ⁻¹)			(0,07–0,21)						
Sr (mg kg ⁻¹)		8,70 (83,4) (1,03–27,0)		9,4 (12,1) (1,17–32,0)		12,43 (10,0)	6,80 (10,0)	2,66 (12,0)	
Th (µg kg ⁻¹)			(0,10–0,46)						
V (mg kg ⁻¹)						0,16 (12,5)	0,50 (12,0)	2,66 (12,0)	
Zn (mg kg ⁻¹)	779 (48,3) (163–1364)	161 (60,2) (44,4–386)	(11,0–105)	2887 (4,8) (80,1–9326)	(17,6–67,6)	32,1 (10,0)	52,6 (10,1)	8,7 (11,5)	62,6 (5,5–461)

*<LOD: kimutatási határ alatt, az értékét nem adták meg a publikációban

Az 1. táblázatban foglaltam össze dél-spanyolországi, kínai, argentin, horvát, török, moldáv, mongol, orosz, chilei és spanyol propoliszok elemtartalmi összetételét.

Az elemek jellemzően széles koncentráció tartományban fordulnak elő a propoliszokban, emiatt nehéz megállapítani egy általános sorrendet. Az elemek átlagos koncentrációja alapján az általam áttekintett kutatások többféle rangsort állítottak fel. Gong et al. (2012) kínai mintákban mért eredményeik alapján a vizsgált 10 legnagyobb koncentrációjú elemre vonatkozó sorrend: Ca>Fe>K>Al>Mg>Na>Zn>Mn>Pb>Sr. Cvek et al. (2008) horvát mintákban meghatározott eredményeiből az alábbi sorrend állítható össze: Zn>Ca>K>Fe>Al>Mg>Na>Ba>Mn>Sr=Cu. Dél-spanyolországi propoliszokban (Bonvehí és Bermejo, 2013) a következőképpen alakul a sorrend: Ca>K>Mg>Zn>Si>S>Fe>Al>P>Na. Ugyanakkor török propoliszokban (Dogan et al., 2006) a vizsgált ásványi anyagok közül a legnagyobb koncentrációban a Na fordult elő, ezt követte a Mg, a Ca és a K hasonló koncentrációban. Nagyjából egy nagyságrenddel alacsonyabb koncentrációban jelenik meg a Zn, két nagyságrenddel alacsonyabban pedig a Cu.

A propoliszok elemösszetételét több tényező is befolyásolhatja. Ezek közé tartozik a földrajzi vagy botanikai eredet, melyet a 3.2.2. alfejezetben fogok részletezni. Emellett az antropogén eredetű hatások (pl. az ipari tevékenység vagy a járműforgalom) is hozzájárulhatnak az elemösszetételükben tapasztalt különbségekhez.

Az utóbbi néhány évtizedben elterjedt a környezet szennyezettségének mértékét különböző indikátorokkal monitorozni. Ehhez célszerű olyan indikátorokat használni, melyek egy jelentős területet jellemeznek és a begyűjtésük is viszonylag egyszerű. Ilyen indikátor lehet maga a méh vagy egyéb méhészeti termékek, mint pl. a propolisz is. Mivel a méh a kaptártól akár több mint 9,5 km-re is eltávolodhat, ezért viszonylag nagy területet mintáz meg (Beekman és Ratnieks, 2000). A propolisz alkalmas lehet akár radionuklidok (Orsi et al., 2006) vagy toxikus elemek indikátoraként is. Marin et al. (2016) vizsgálatából kiderül, hogy jelentős ipari tevékenység alatt álló és magas járműforgalmú területen nem a méh test vagy a propolisz forrásának tekintett fenyőlevél, hanem a propolisz tartalmazza a legtöbb arzént, kadmiumot és ólmot. A méz Cd, Cu, Pb, Zn és As tartalmához viszonyítva szintén szignifikáns, akár több nagyságrenddel nagyobb koncentráció is lehet a propoliszban (Roman et al., 2011). Conti és Botrè (2001) többek közt a propolisz toxikus elem tartalmát, mint környezeti indikátort használták a járműforgalom megfigyelésére. Azt találták, hogy a gyűjtési időszaktól függetlenül, egy kivétellel szignifikáns különbség ($p<0,01$) volt Róma belvárosában és a környéken gyűjtött propoliszok Pb, Cd és Cr tartalma között. A belvárosban és a város közvetlen közelében

– mely szintén jelentős forgalommal rendelkezett – az ólomtartalom nem mutatott szignifikáns különbséget ($p=0,03$). Ez alapján a propolisz jó környezeti indikátornak tekinthető. Golubkina et al. (2016) 4 területről gyűjtött propolisz elemtartalmát vizsgálták. Azt találták, hogy a jelentős Pt bányászati tevékenység alatt álló mongóliai területen volt a legmagasabb a Cd és az Pb koncentrációja. Szintén egyértelműen magasabb az Al, As, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, illetve a Zn koncentrációja is. Ugyanakkor ezen elemek koncentrációja nem jelentős a szintén ipari tevékenység alatt álló oroszországi területeken. Emiatt nem lehet azt kijelenteni, hogy a megnövekedett koncentrációjuk egyértelműen az ipari tevékenységhez köthető, mivel területi adottságból (talaj, növényzet) is adódhat a különbség.

3.1.7. A propolisz-tartalmú termékek elemösszetétele

Elmondható, hogy napjainkban is kevés kutatás foglalkozik a propolisz-tartalmú termékek elemösszetételének meghatározásával (González-Martín et al., 2018). González Rodríguez et al. (1999) vizsgálták a propoliszt tartalmazó étrend-kiegészítők makroelem-tartalmát. A termékek közt szerepelt összesen 15 tableta, kapszula, ampulla, illetve szirup. A 2. táblázat tartalmazza az összetételükre vonatkozó adatokat. A legalacsonyabb nátrium szintet az ampullákban mérték. A kálium koncentrációja jellemzően magasabb a nátriuméhoz viszonyítva, ugyanakkor nagy változatosságot mutat. A szilárd mintákban (tableta és kapszula) a kalcium fordult elő a legnagyobb mennyiségben, a folyékony mintákról ugyanakkor ez nem mondható el. A magnézium jellemzően a szilárd mintákban fordult elő nagyobb koncentrációban. Ugyanakkor mindegyik elemről elmondható, hogy koncentrációjuk nagy változatosságot mutat a termékekben.

2. táblázat: Propolisz-tartalmú étrendkiegészítők elemtartalmi összetétele (mg kg⁻¹, minimum–maximum) (González Rodríguez et al., 1999)

elem	tableta	kapszula	ampulla	szirup
Na	19,5–136	47,7–250	4,80–18,2	25,8–183
K	15,2–285	19,0–280	6,26–17,8	59,6–217
Ca	23,7–285	67,5–301	7,50–9,17	24,7–44,9
Mg	5,50–194	8,72–142	2,53–3,00	11,0–68,3

Cvek et al. (2008) meghatározták a nyers propolisz és vele párhuzamosan a belőle készült tinktúra elemtartalmi összetételét egyaránt. Kísérletükben 1 g nyers propolisz extrahálásához 5 mL 80% (v/v)-os etanolt használtak, majd a keletkezett tinktúrát 10 mL-re egészítették ki az extrahálószerrel. A tinktúrák eredményei és az átviteli hatások a

3. táblázatban láthatók. Mivel egy tízszeresen hígított kivonatról van szó, ebből adódóan az elemtartalmi összetétele minden esetben alacsonyabb, mint a nyers propoliszé. Ugyanakkor az elemek egymáshoz viszonyított aránya a korábban említett (Zn>Ca>K>Fe>Al>Mg>Na>Ba>Mn>Sr=Cu) sorrendhez képest valamelyest módosult. A tinktúrában az alábbi sorrend állítható fel: Ca>K>Zn>Fe>Na>Mg>Al>Ba>Mn>Sr=Cu. A módosult sorrend magyarázható azzal, hogy az elemek más arányban jutnak át a tinktúrába, mely jellemezhető az átviteli hatásfokkal (transfer coefficient, TC). Ennek meghatározásához a tinktúrában lévő elemek mg L⁻¹ egységben megadott koncentrációját osztották a nyers propolisz mg (100 g)⁻¹ egységben megadott elemkoncentrációjával, mindezt pedig szorozták 100-zal. A különböző elemek esetében számított átviteli hatásfok széles tartományban változott. A legmagasabb átviteli hatásfokot a K esetében találták (82,46%), közepes átviteli hatásfokkal rendelkezett a Ca, Na, B, Ba, Cu és a Sr 21,05-52,93% közötti értékkel, míg alacsony volt az átvitel a Mg, Al, Fe, illetve a Zn elemeknél 2,50-7,10%-kal.

3. táblázat: Propolisz tinktúrák elemtartalmi összetétele, valamint az átlagos átviteli hatásfok (TC) a nyers propoliszból (Cvek et al., 2008)

elem	átlag (mg L ⁻¹)	RSD (%)	minimum (mg L ⁻¹)	maximum (mg L ⁻¹)	TC (%)
Ca	96,02	3,14	17,1	110,2	52,93
K	81,31	4,62	31,0	81,3	82,46
Mg	1,30	4,36	0,772	3,01	4,26
Na	2,07	2,97	0,176	3,06	21,93
Al	1,01	13,53	0,215	2,90	2,50
B	0,16	9,57	0,054	1,57	35,75
Ba	0,48	9,74	0,196	1,09	21,87
Cu	0,20	5,73	0,040	1,83	21,13
Fe	2,92	10,01	0,758	6,54	6,75
Mn	0,47	10,34	0,031	0,806	21,71
Sr	0,20	7,58	< 0,0008	0,197	21,05
Zn	20,5	7,49	4,04	186	7,10
Cr	-	-	< 0,008	< 0,008	-
Ni	-	-	< 0,100	< 0,100	-
As	-	-	< 0,003	< 0,003	-
Hg	-	-	< 0,0003	0,001	-
Pb	-	-	< 0,005	0,053	-

González-Martín et al. (2018) 31 kereskedelmi forgalomban kapható propolisz-tartalmú termékeket (tablettákat és kapszulákat, tinktúrákat és szirupokat, valamint cukorkákat) elemezték azok Cr, Ni, Cu, Zn és Pb koncentrációinak meghatározására, melyeket a 4. táblázat tartalmaz. A termékek között voltak olyanok, melyek csak propolisz felhasználásával készültek, míg mások valamilyen más hozzáadott anyagot is tartalmaztak. A kizárólag propoliszt tartalmazó termékeken belül 4 tinktúrát elemezték, melyet külön kiemeltem. Ezekből az látszik, hogy a tinktúrákban mért koncentráció tartomány jellemzően alacsonyabb, mint általánosan a propolisz-tartalmú termékekben tapasztalt tartományok. A publikáció csak azt említi, hogy etanol-víz eleggyel készült kivonatokról van szó a tinktúrák esetében, nem tér ki azok etanol koncentrációjára.

4. táblázat: Propolisz-tartalmú termékek elemösszetétele (mg kg⁻¹) (González-Martín et al., 2018)

elem	csak propoliszt tartalmazó termékek		propolisz mellett egyéb összetevőt is tartalmazó termékek
	összes	tinktúra	
Cr	<0,05–9,7	0,10–0,87	0,10–17,7
Ni	<0,05–7,01	0,01–0,04	0,01–7,00
Cu	<0,05–6,10	<0,01–0,70	0,01–6,44
Zn	<0,05–110,6	0,20–0,71	0,20–102,5
Pb	<0,05–7,21	0,03–0,05	0,03–7,20

3.2. A földrajzi és botanikai eredetazonosítás

3.2.1. A földrajzi és botanikai eredetazonosítás jelentősége és lehetőségei

Az élelmiszerekkel kapcsolatos csalás és az élelmiszerhamisítás napjaink vezető problémái közé tartoznak, melyek hatékony kiszűrése és szabályozása még várat magára, sőt az említett fogalmak egyértelmű definiálása sem valósult meg (Spink et al., 2019). Az élelmiszerekkel kapcsolatos csalás tárgykörébe sorolják azok földrajzi vagy botanikai eredetének hamis megjelölését is, mellyel megtévesztik a vásárlókat. Ennek akkor van nagy jelentősége, ha a termék valamilyen tulajdonságában, megítélésében különbözik, vagy kiemelkedik ugyanabba a csoportba tartozó élelmiszerek közül. A megkülönböztetett termékek kötődhetnek egy országhoz, esetleg régióhoz, vagy egy meghatározott növényi eredetűhez.

Az élelmiszerek csomagolásán gyakran találkozhatunk azok eredetmegjelölésével, származási országával, azon belüli régiójával, mint pl. a földrajzi árujelzőkkel, vagyis az oltalom alatt álló eredetmegjelölés (OEM), illetve az oltalom alatt álló földrajzi jelzés (OFJ) logójával. Ezek a feliratok gyakran befolyásolják a vásárlók döntését, sokan

keresik például a boltok polcain a hazai termékeket, vagy épp ellenkezőleg, külföldi származású élelmiszereket választanak. A vásárlói döntést befolyásolhatja, hogy az adott termék kedvezőbb minőségi mutatókkal rendelkezik, egészségesebb, de bizalmatlanságot kelthet a termék iránt, ha az nem egy adott régióból, országból, vagy az EU-ból származik. Előnyben részesíthetik adott régióból a kistermelőket állatjóléti és környezetvédelmi szempontok alapján, ugyanakkor nagy hatással lehet döntésükre a média, valamint a hazafias viselkedés is (Luykx és van Ruth, 2008). Ezen szempontok alapján egy-egy országból, régióból származó termékért a kereskedők magasabb árat is kérhetnek, így a vásárlók joggal várhatják el azt, hogy a feltüntetett származási hely feleljen meg a valóságnak. Ugyanakkor a magasabb minőségi kategóriát előállítóknak is érdeke, hogy igazolható legyen a termékük eredete, ezáltal biztos piaccal rendelkezzenek (Cozzolino et al., 2011).

Az eredetazonosítás leggyakoribb céltermékei közé tartozik a bor (Geana et al., 2013; Martin et al., 2012), a tea (Pilgrim et al., 2010), a kávé (Giraudó et al., 2019), a méz (Madejczyk és Baralkiewicz, 2008; Necemer et al., 2009), az olaj, különösen az olívaolaj (Sayago et al., 2018), a gyümölcsle (Bat et al., 2018), a paprika (Palacios-Morillo et al., 2016), a rizs (Zhu et al., 2018), a tej (Caredda et al., 2017), a sajt (Magdas et al., 2019), a vaj (Bassbasi et al., 2014), vagy a propolisz. Ezen élelmiszerek eredetének igazolására szükség volt kifejleszteni olyan analitikai módszereket, melyekkel az érintett élelmiszer eredetmegjelölése igazolható vagy cáfolható.

Az analitikai és adatértékelési módszer célja, hogy objektív módon igazolja egy mintáról, hogy az adott csoporthoz tartozik-e vagy sem. Ehhez szükséges létrehozni egy adatbázist autentikus minták elemzésével, majd ezen mérési adatokat feldolgozva egy hatékony csoportosítási modellt létrehozni és validálni (Callao és Ruisánchez, 2018). Ennek felderítésére számos analitikai módszert alkalmaztak már, pl. közeli infravörös spektroszkópiát (NIR) (Giraudó et al., 2019), magmágneses rezonanciát ($^1\text{H-NMR}$) (Huo et al., 2017), valamint HPLC (Borse et al., 2002), LC-MS (Lee et al., 2013) vagy GC-MS (Ziółkowska et al., 2016) technikákat egyaránt. Az előbb említetteken felül az elkülönítést végezhetik könnyű (δD , $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{18}\text{O}$, $\delta^{34}\text{S}$) vagy nehéz elemek (pl. $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) izotóparányának elemzésével (Rashmi et al., 2017; Techer et al., 2017; Camin et al., 2018) vagy multielemes elemtartalom meghatározást követően.

Az elemtartalom-meghatározáson alapuló eredetazonosítási technikákról elmondható, hogy általában több elem koncentrációját szokták vizsgálni. Földrajzi vagy botanikai eredetmeghatározáshoz azokat az elemeket kell kiválasztani, melyek koncentrációját csak

a termőhely földrajzi elhelyezkedése, vagy a termék botanikai eredete befolyásolja, és nincs hatással rá az évjárat vagy az emberi tevékenység, tehát „ujjlenyomatként” használható (Galgano et al., 2008).

Martin et al. (2012) közel 1400 ausztrál bor vizsgálata után arra a megállapításra jutottak, hogy nem lehet általánosan meghatározni a vizsgált 56 elemből azokat, melyek minden vizsgálatba bevont bor földrajzi elkülönítéséhez alkalmazhatók, de a Li, Na, Mg, Si, P, K, Ca, Mn, Fe, Ni, Zn, Rb, Sr, Cs és Ba elemeket ítélték a leginkább célravezetőnek. Ez alapján célszerű a kutatás során minél több elem koncentrációját meghatározni az autentikus mintákból, majd kiválasztani azokat, melyek alkalmasak az elkülönítésre. Egy kiemelt csoportként szokás kezelni a ritkaföldfémeket eredetazonosítás tekintetében, melyek alacsony koncentrációjuk miatt általában csak ICP-MS-sel mérhetőek (Matos-Reyes et al., 2013). Ide sorolandó a La, Ce, Pr, Nd, Pm, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Th, Yb, Lu, valamint az Y (Joebstl et al., 2010). Az 5. táblázat foglalja össze néhány élelmiszer esetében a meghatározott elemeket.

Az elemtartalmi eredmények, mint független változók meghatározását követően szükséges egy csoportosítási modellt létrehozni. Az analitikai értékelés során akár több száz változó is keletkezhet a mintákból, melyekből a hasznos információt, vagyis a földrajzi és/vagy botanikai csoporthoz tartozás kérdését kell kinyerni. Ehhez adatbányászati, kemometriaival módszerekhez kell folyamodni. A csoportosításra számos technikát alkalmaztak már korábban, ahogyan az 5. táblázatban vagy Callao és Ruisánchez (2018) áttekintő cikkében is látható. Ilyen módszerek a főkomponens analízis (PCA), a lineáris diszkriminancia analízis (LDA), a klaszter analízis (CA), a parciális legkisebb négyzetek diszkriminancia analízis (PLS-DA) vagy a legközelebbi szomszéd elve (kNN). Ezek közt talán a két legelterjedtebb és leggyakrabban alkalmazott módszer a PCA és az LDA.

A főkomponens analízis egy adatértékelési rendszernek tekinthető. Elsősorban nem osztályozásra alkalmas, de segítségével felismerhetőek a jellegzetes mintázatok, csoportosulások a minták között. Lényege, hogy a rendelkezésre álló változók számát csökkenteni főkomponensekbe (PC) tömörítve azokat, úgy, hogy a főkomponensek a lehető legjobban leírják az adatokban rejlő variációt. Az első PC tartalmazza a legtöbb információt, az ezt követő főkomponensek információtartalma, vagyis sajátértéke csökken. Legfeljebb annyi PC hozható létre, ahány változó rendelkezésre állt eredetileg, ugyanakkor az a cél, hogy az eredetileg rendelkezésre álló változók számát csökkentjük.

5. táblázat: Néhány példa élelmiszerek földrajzi eredetének azonosítására, illetve a mért elemek köre és az alkalmazott kemometriai módszerek

vizsgált élelmiszer	meghatározott elemek	minták származási országa (betűjele)	kemometriai módszer	hivatkozás
propolisz (n=96)	As, Br, Ce, Co, Cr, Eu, Fe, La, Rb, Sb, Sc, Sm, Th, Zn	AR	PCA, LDA, kNN	Cantarelli et al. (2011)
propolisz (n=32)	Al, As, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Sr, Zn	CN, US	PCA, LDA, CA	Gong et al. (2012)
bor (n=1397)	Al, As, Ba, Be, Bi, Ca, Cs, Cd, Ce, Co, Cr, Cu, Dy, Er, Eu, Fe, Ga, Gd, Ge, Ho, Hf, In, K, La, Li, Lu, Mg, Mn, Mo, Na, Nb, Ni, Pb, Pr, Rb, S, Sb, Se, Si, Sn, Sm, Sr, Ta, Tb, Te, Th, Ti, Tl, Tm, U, V, W, Y, Yb, Zn, Zr	AU	LDA	Martin et al. (2012)
méz (n=39)	Al, As, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Se, Zn	IT	PCA, CDA	Di Bella et al. (2015)
cseresznye (mag+gyümölcsbűs) (n=28)	Al, As, B, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Na, Ni, Pb, Se, Sr, Ti (mag és gyümölcsbűs), Co, Mn, Te (csak mag), ill. Li, Mo, Tl, V (csak gyümölcsbűs)	ES	LDA	Matos-Reyes et al. (2013)
komló (n=77)	Br, Ca, Cl, Fe, K, Mn, P, Rb, S, Si, Sr, Ti, Zn	AT, AU, CZ, DE, GB, NZ, SI, ZA, US	LDA	Ocvirk et al. (2019)
olívaolaj (n=125)	Al, As, B, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Ce, Co, Cr, Cs, Cu, Dy, Er, Eu, Fe, Ga, Gd, Ge, Hf, Ho, La, Li, Lu, K, Mg, Mn, Mo, Na, Nb, Ni, Pb, Pm, Pr, Rb, Sb, Se, Sm, Sn, Sr, Ta, Tb, Ti, Tl, Tm, Th, U, V, W, Y, Yb, Zn, Zr	ES	PLS-DA	Sayago et al. (2018)
birkahűs (n=99)	Ag, Al, As, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Sb, Se, Th, Tl, U, V, Zn	CN	PCA, CA, LDA	Sun et al. (2011)
disznóhűs (n=323)	Al, As, B, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cs, Cu, Fe, Ga, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb, Rb, S, Se, Sr, U, V, Zn	KR, US, DE, AT, NL	PCA, LDA	Kim et al. (2017)

A létrejövő PC-kből a főkomponensek számának megfelelő dimenziójú teret feszítenek ki, ebben ábrázolhatóak a minták (Ozsváth és Ács, 2011).

A lineáris diszkriminancia analízis már kifejezetten csoportosításra alkalmas kemometriai eljárás. Az a feladata, hogy előre meghatározott csoportokba sorolja a mintákat, azok független változói által. A különböző osztályok közötti varianciát maximalizálja, miközben az egy adott osztályon belüli varianciát minimalizálja. Célja a legjobban diszkrimináló változók megkeresése és a későbbi ismeretlen minták besorolása az egyes osztályokba. Ezáltal a csoportba tartozásról adhat becslést ismeretlen minták független változóinak (pl. elemösszetételének) ismeretében. Az egyes minták közötti különbség akár grafikus formában is megjeleníthető (Horvai, 2001; Ozsváth és Ács, 2011).

3.2.2. A propoliszok földrajzi és botanikai eredetének azonosítása

A propoliszok földrajzi és botanikai eredetazonosítása azért jelentős, mert a propolisz élettani hatását vagy szerves komponenseinek összetételét befolyásolhatja, hogy a méhek a propolisz készítéséhez használt gyantát milyen növényről gyűjtik – ahogyan a 3.1.6.1. alfejezetben bemutatásra került. Közvetett módon a földrajzi terület is befolyásolja szerves komponenseinek összetételét azon keresztül, hogy milyen az adott területen a forrásként szolgáló fajok, alfajok, hibridek vegetációja.

Magyarországon a nyár fajok közül, amelyek a propolisz forrásai lehetnek, a fehér nyár (*Populus alba*) van jelen jelentős területen, mivel 2,7%-át adja a teljes erdőborítottságnak. Ennek kb. 70%-a a Duna-Tisza közén fordul elő (Rédei, 2000). A KSH (2013) kimutatása szerint a nyárfajok jelentős hányada Bács-Kiskun („hazai nyár”), Pest, illetve Szabolcs-Szatmár-Bereg („nemesnyár”) megyében található. A nyár nemzetségről elmondható, hogy a viszonylag alacsony fajszáma ellenére rendkívül differenciált, számos természetes és mesterséges hibridje fordul elő, melyek egyértelmű azonosítása és egymástól való elkülönítése nehéz feladat (Bartha, 2004). Isidorov et al. (2016) megállapítása szerint, ha rendelkezésre áll többféle forrás, melyről gyűjthetnek a méhek gyantát, akkor vegyesen teszik azt. Emiatt az esetleges földrajzi különbségek az összetételben részben az eltérő növényzettel is indokolhatóak. Ugyanakkor a gyanták eltérő tulajdonságait, összetételét okozhatják a talajok eltérő tulajdonságai is (pl. elemkoncentráció, pH). A magyarországi propoliszok terület alapján történő összehasonlítása összetételük és élettani hatásuk alapján egyelőre csak alacsony mintaszámmal valósult meg (Molnár et al., 2017).

A propolisz esetében számos módszert használtak már eredetazonosításra. Moț et al. (2010) UV-Vis reflexiós spektroszkópiát alkalmaztak romániai propoliszok (n=39) elkülönítésére. A mintákat 2 nagyobb csoportba, azon belül 2, illetve 3 kisebb csoportba tudták sorolni CA, PCA és LDA segítségével. Sârbu és Moț (2011) ugyanazokat a romániai mintákat képelemzéses vékonyréteg-kromatográfiával vizsgálta, majd fuzzy hierarchikus klaszterezéssel értékelve az eredményeket, ugyancsak 5 csoportot különített el közöttük. A hatékony elkülönülést a propoliszok botanikai eredetének különbségével indokolták mindkét esetben. Cheng et al. (2013) dinamikus gőztéranalízissel egybekötött GC-MS technikával, valamint elektronikus orr segítségével határozták meg 12 kínai propolisz illékony komponenseinek összetételét. A 4 földrajzi egységből származó mintákat hatékonyan el tudták különíteni egymástól PCA segítségével.

A fent említett módszerek mellett találunk példát az elkülönítésükre a makro- és mikroelem-tartalmuk alapján egyaránt. Gong et al. (2012) 31 kínai és egy, az Egyesült Államokból származó propolisz elkülönítését végezték azok Ca, Al, Mg, K, Fe, Na, Zn, Mn, Pb, Sr és Cd tartalma alapján. A lineáris diszkriminancia analízis (LDA) segítségével földrajzi eredet szerint csoportosítva 100%-os csoportosítási hatékonyságot értek el, míg a szín, illetve a klimatikus zóna szerint 90,6%, illetve 84,4% volt a hatékonysága a modelljüknek. Hasonló eredmény született főkomponens analízis, illetve klaszter-analízis használatával egyaránt. Cantarelli et al. (2011) argentin propolisz minták eredetazonosítására használták a meghatározott 14 elemből azok Br, Co, Cr, Fe, Rb, Sb, Sm és Zn koncentrációját. A csoportosítás hatékonysága 90% fölötti az LDA, illetve a legközelebbi szomszéd elve alapján. A kutatási eredményekből az látszik, hogy a propoliszok elemtartalmának meghatározásával hatékonyan el tudjuk különíteni őket földrajzi területek szerint.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. A felhasznált vegyszerek

A kalibrálóoldatok elkészítésére és a minták hígítására 18,2 M Ω cm ellenállású, MilliQ minőségű vizet használtam (MilliQ, Millipore Corp., Bedford, MA, USA). A kalibrációsoldat 1000 mg L⁻¹ koncentrációjú monoelemes törzsoldatokból állítottam össze (Scharlau, Barcelona, Spanyolország), kivéve a ritkaföldfémek esetében, ahol 100 mg L⁻¹ koncentrációjú multielemes törzsoldatot használtam (Teknolab A/S, Drøbak, Norvégia). Belső standard-ként ródiót alkalmaztam (Fluka, Buchs, Svájc). A roncsoláshoz elemanalitikai tisztaságú salétromsavat (65% (m/m)) és hidrogén-peroxidot (30% (m/m)) használtam (Scharlab S.L. Sentmenat, Spanyolország). A kivonatok készítésekor elemanalitikai tisztaságú abszolút etanolt ($\geq 99,8\%$ (v/v)) (VWR International, Fontenay-sous-Bois, Franciaország) alkalmaztam. Az összes polifenol tartalom meghatározásához Folin-Ciocalteu reagenst (2 mol L⁻¹), Na₂CO₃-ot és galluszsavat ($\geq 99,5\%$, CAS: 149-91-7) (Scharlab SL, Sentmenat, Spanyolország) használtam fel. A flavonoid-tartalom méréséhez használt vegyszerek a következők voltak: NaNO₂ (VWR International, Leuven, Belgium), AlCl₃ (VWR International, Debrecen, Magyarország), NaOH (Sigma Aldrich, St. Louis, USA) és (+)-katechin ($>95,0\%$, CAS: 154-23-4, TCI Development Co, Shanghai, Kína).

4.2. A propolisz minták

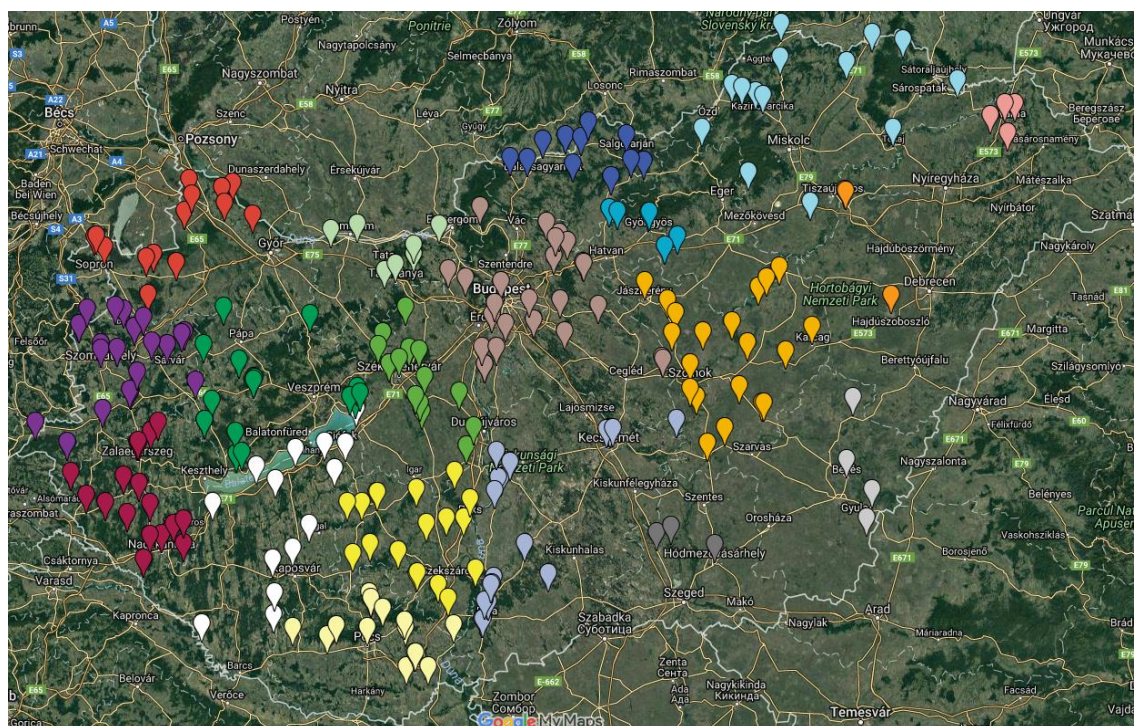
A propolisz minták az Országos Magyar Méhészeti Egyesület közreműködésével 2014 őszén lettek begyűjtve álló méhészetekből, a gyűjtést a méhészek végezték. A propolisz mintákat szcintillációs edényekben tároltam (4. ábra). Összesen 252 nyers propolisz vizsgálatát végeztem el, melyek településszintű származását ismertem. Régió, illetve megye szintű eredetüket a 6. táblázat foglalja össze, illetve az 5. ábrán a Google My Maps alkalmazás segítségével be is jelöltem a gyűjtési pontokat a térképen.



4. ábra: A begyűjtött nyers propoliszok (n=252)

6. táblázat: A vizsgált nyers propoliszok származása régió és megye szinten

régió	darabszám	megye	darabszám
Nyugat-Dunántúl	51	Vas	20
		Győr-Moson-Sopron	14
		Zala	17
Dél-Dunántúl	51	Somogy	14
		Baranya	15
		Tolna	22
Közép-Dunántúl	38	Fejér	14
		Veszprém	17
		Komárom-Esztergom	7
Közép-Magyarország	25	Pest megye és Budapest	25
Dél-Alföld	28	Bács-Kiskun	21
		Csongrád	3
		Békés	4
Észak-Alföld	27	Jász-Nagykun-Szolnok	20
		Hajdú-Bihar	3
		Szabolcs-Szatmár-Bereg	4
Észak-Magyarország	32	Borsod-Abaúj-Zemplén	15
		Heves	6
		Nógrád	11



5. ábra: A vizsgált nyers propoliszok származási helyei a Google My Maps-en jelölve

4.3. A propolisz kivonatok készítése

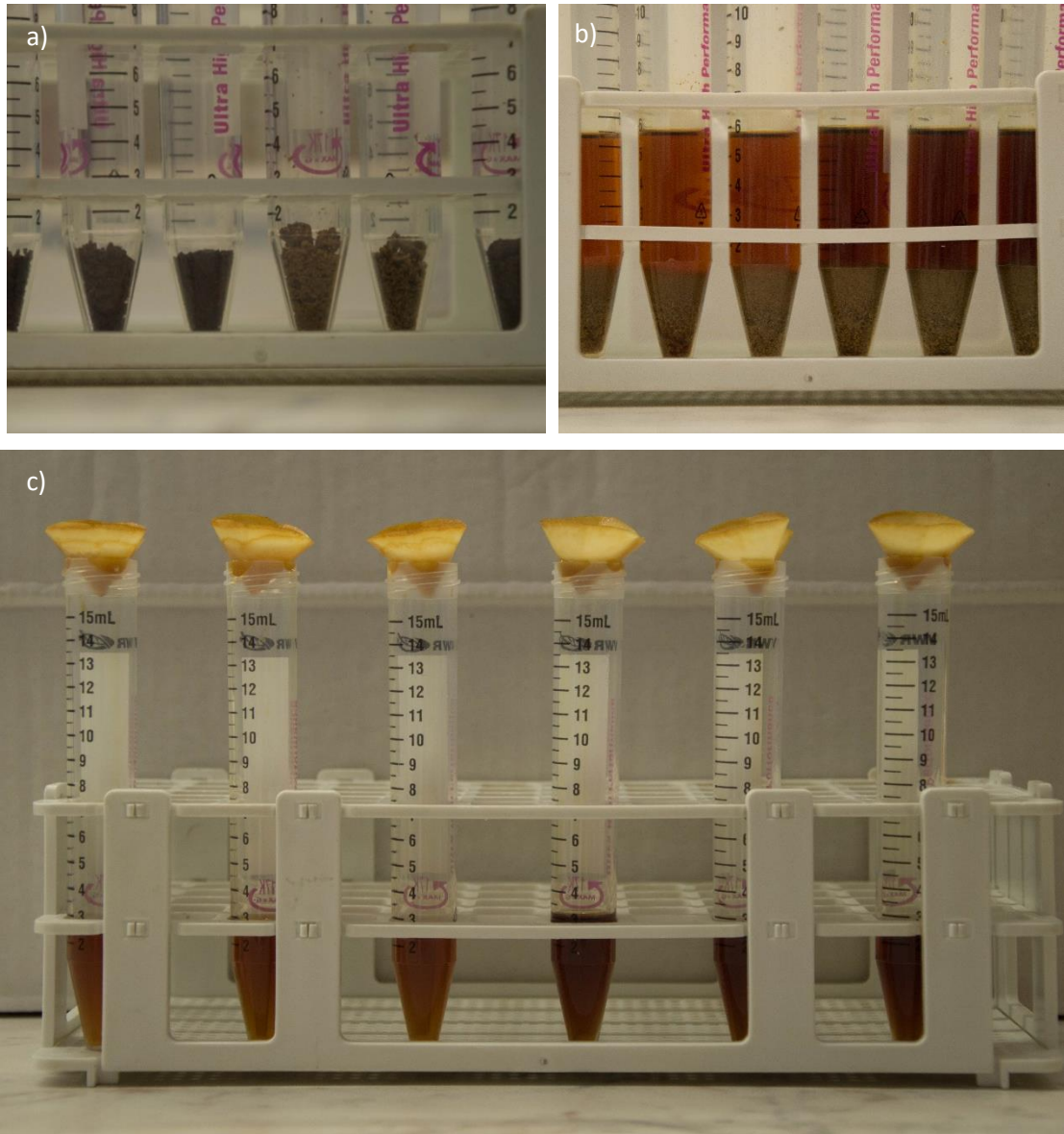
A nyers propoliszból a propolisz tinktúrába (kivonatba) való átoldódás vizsgálatához az alábbi beállításokat végeztem el. Létrehoztam egy keverék propoliszt a korábban begyűjtött hazai propoliszok közül kb. 30 minta összekeverésével és homogenizálásával. Ez a propolisz tehát egy keverék volt, közel minden megyéből tartalmazott mintát, de egyik megye sem dominált, ezért egy hazai, átlagos összetételű propoliszról tekinthető. Ebből a nyers propoliszból 15 mL-es centrifugacsövekbe 0,5000 g-ot mértem be $\pm 0,0100$ g pontossággal.

A kioldódás határfokának vizsgálatokor figyelembe vettem az extrahálószer összetételét (etanoltartalomra vonatkoztatva 0, 50, 80 és $\geq 99,8\%$ (v/v), MilliQ minőségű vízben), az extrahálószer térfogatát (2,5 mL, 5,0 mL és 10 mL), illetve az extrakciós időt (1 óra, 1 nap, 1 hét és 1 hónap). A $\geq 99,8\%$ (v/v) etanoltartalmú extrahálószerrel a későbbiekben 100% (v/v)-osként említem. Az extrahálást szobahőmérsékleten, $23 \pm 2^\circ\text{C}$ -on végeztem. Mindegyik beállításból 3 párhuzamos mintát készítettem. A vizsgált beállításokat a 7. táblázat foglalja össze.

7. táblázat: Az extrahálási körülmények a nyers propoliszból a tinktúrába való átoldódás vizsgálatában

extrahálószer etanoltartalma (% (v/v))	extrahálószer térfogata (mL)	extrakciós idő
0	5,0	1 óra, 1 nap, 1 hét, 1 hónap
50	5,0	1 óra, 1 nap, 1 hét, 1 hónap
80	2,5	1 óra, 1 nap, 1 hét, 1 hónap
	5,0	1 óra, 1 nap, 1 hét, 1 hónap
	10	1 óra, 1 nap, 1 hét, 1 hónap
100	2,5	1 óra, 1 nap, 1 hét, 1 hónap
	5,0	1 óra, 1 nap, 1 hét, 1 hónap
	10	1 óra, 1 nap, 1 hét, 1 hónap

Az extrahálószer hozzáadását követően intenzíven összeráztam, majd Vortex segítségével kevertettem a csövekben lévő mintát. Az 1 napos, 1 hetes és 1 hónapos extrakciós idejű minták esetén a munkanapok elején és végén is összekevertem őket. Az extrakciós idő leteltekor újra összekevertem, majd centrifugáltam őket $1600 \times g$ centrifugális erővel 10 percig. A felülúszót centrifugacsőbe szűrtem át Filtrak 388 szűrőpapíron (Sartorius, Stedim Biotech S.A., Gottingen, Németország) és az előkészítésig sötét helyen tároltam szobahőmérsékleten. A folyamat néhány lépését a 6. ábra szemlélteti.



6. ábra: a) néhány bemért nyers propolisz, b) az extrahálás folyamata és c) a tinktúrák szűrése extrahálást követően

Az átviteli hatások vizsgálatához véletlenszerűen kiválasztottam 27 nyers propoliszt a rendelkezésre álló mintákból. Ezek a minták nem feltétlenül egyeztek meg a keverék propolisz készítése során felhasználtakkal. A mintákat – egy kiválasztott extrahálási beállítás mellett – 1 hétig, 5 mL 80% (v/v)-os etanollal extraháltam. Minden más körülmény megegyezett a fentebb leírtakkal. A százalékos átviteli hatásfokot (TC) az alábbi összefüggés alapján számoltam ki:

$$TC (\%) = \frac{\text{tinktúrában mért koncentráció (mg L}^{-1}\text{)}}{\text{nyers propoliszban mért koncentráció (mg kg}^{-1}\text{)}} * \text{hígítási faktor (L kg}^{-1}\text{)} * 100$$

4.4. A nyers propoliszok roncsolása

A nyers minták homogenizálva kerültek hozzám. Ezeket korábban az Eszterházy Károly Egyetem Élelmiszertudományi és Borászati Tudásközpontban folyékony nitrogénnel lefagyasztották, majd dörzsmozsárban homogenizálták. A homogenizált mintákat a kémiai mintaelőkészítésig és az extrakcióig szcintillációs edényben tároltam. A mintákat a Debreceni Egyetem Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar Élelmiszertudományi Intézetében mikrohullámú roncsolással készítettem elő. Mivel a mintákból korlátozott mennyiség állt rendelkezésre, egyúttal a mintaátbocsátási képességet is javítani szerettem volna, ezért „vessel inside vessel” módszert alkalmaztam. Ez a módszer nem ismeretlen a mikrohullámú előkészítések során, léteznek eszközök pl. a Milestone forgalmazásában, melyekkel ez elvégezhető. Lényege, hogy a teflonedényen belül egy vagy több kisebb (pl. kvarcból vagy teflonból készült) mintatartót helyezünk el, melyekbe a mintát bemérjük, és amelyekben a roncsolás végbemegy. Az általam alkalmazott mintaelőkészítési módszert nem kizárólag kereskedelmi forgalomban lévő eszközökkel végeztem el, habár kereskedelmi forgalomban lévő eszközökből merítettem az ötletet.

A propoliszokból 0,1000 g-ot mértem be a kvarccsövekbe $\pm 0,0100$ g pontossággal, melyhez 2 mL cc. HNO_3 -at adtam és egy éjszakát állni hagytam. Másnap 0,6 mL 30% (m/m)-os H_2O_2 -t adtam hozzá, majd teflonszalaggal lezártam a kvarccsöveket. Poli(tetrafluor-etilén) (PTFE, teflon) edényekbe helyeztem a kvarccsöveket, edényenként 3 csövet. A megfelelő hőmérsékletszabályozás, a roncsolódás hevességének lassítása, illetve a nyomáskiegyenlítés érdekében 10 mL ioncserélt vizet raktam a PTFE edény és a kvarccsövek közé. Ezt követően a teflonedényeket lezártam és a mikrohullámú roncsolóba (Milestone Start D, Milestone Srl, Sorisole, Olaszország) helyeztem őket. A roncsolás paraméterei a következők voltak: 15 perc alatt felmelegítés 180°C -ra, 20 percig 180°C -on tartás, ezt követően 60 perc ventiláció. A roncsolatokat kvantitatív módon 15 mL-es centrifugacsövekbe mostam át Pasteur pipetta segítségével, és 9,5-10,5 mL-re (a centrifugacső 10 mL-es jelzéséig) egészítettem ki ioncserélt vízzel. Mivel a centrifugacsövek skálázása nem teljesíti az általam elvárt pontosságot, ezért az oldatok pontos térfogatát az ioncserélt vízzel feltöltött roncsolat tömege és sűrűsége szorzatával számoltam ki. A roncsolatokat $1,07 \text{ g cm}^{-3}$ sűrűségűnek tekintettem, ami a 12,65% (m/m)-os salétromsav sűrűségének felel meg 20°C -on. A mintákból 3 párhuzamos előkészítés és mérés történt. A roncsolás egyes lépéseit a 7. ábra mutatja be, az elkészült roncsolatok pedig a 8. ábrán láthatók.



7 ábra: A nyers propoliszok roncsolása: a) a kvarccsövek teflonszalaggal lezárva, b) a lezárt kvarccsövek a teflonedényben, c) a minták a mikrohullámú roncsolóban, d) a minták a roncsolást követően



8. ábra: A propoliszok előkészítése során keletkezett roncsolatok

4.5. A propolisz kivonatok roncsolása

A propolisz tinktúrák folyékony halmazállapotúak, ezért akár roncsolás nélkül is meg lehetne határozni az elemösszetételüket. Emiatt megpróbáltam roncsolás nélkül, „direkt mintabevittel” elemezni őket. A hígításuk során azt tapasztaltam, hogy vízzel, savval vagy detergenssel (pl. Triton X-100) hígítva az etanoltartalmú kivonatokat, kicsapódás

történt és nem voltak mérhető állagúak a minták. Találhatunk példát arra a szakirodalomban, hogy a propanol és xilol keverékével hígított, magas szerves anyag tartalmú propoliszt közvetlenül a plazmába juttatják. Ez esetben szükséges oxigén adagolása a plazmába a kónuszon lerakódó szénréteg elkerülése végett (Zhang et al., 2015). Ugyan a plazmába történő oxigén adagolása megvalósítható lett volna az Élelmiszertudományi Intézetben, de nikkell helyett platina kónuszra lett volna szükség a készülékben, ami nem állt rendelkezésre. Ezért a mintákat mindenképpen roncsolnom kellett.

Mivel azt tapasztaltam, hogy a tömény salétromsav és a kivonatok etanoltartalma heves reakcióba lép egymással, ezért a kivonatokból az etanolt a roncsolás előtt előzetesen eltávolítottam. Ehhez a tinktúrákat előbb összeráztam és 2 mL-t mértem be belőlük kvarccsövekbe, kivéve a 2,5 mL extrahálószeret tartalmazó beállításnál, ugyanis ebben az esetben 1 mL volt a bemért térfogat. A bepárlást kíméletesen, 40°C-on tömegállandóságig végeztem, azért, hogy elkerüljem az esetleges negatív hibát az elemek illékonyaságából adódóan. Az összehasonlíthatóság miatt a vizes kivonatok előkészítésekor is bepárlást alkalmaztam. Az ezt követő lépések megegyeznek a nyers propoliszok roncsolásával.

4.6. Az elemtartalom-meghatározás

Az elemtartalmi meghatározást a Debreceni Egyetem Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar Élelmiszertudományi Intézetében, egy Thermo Scientific iCAP 6300 Dual view induktív csatolású plazma optikai emissziós spektrométerrel (ICP-OES) és egy Thermo Scientific XSeries II induktív csatolású plazma tömegspektrométerrel (ICP-MS) (Bréma, Németország) végeztem. Az ICP-MS mérés előtt egy 5-szörös hígítás történt a savtartalom csökkentése céljából, és Rh belső standard-et adtam hozzá, melynek végső koncentrációja 40 $\mu\text{g L}^{-1}$ volt, míg ICP-OES-nél nem volt hígítás és belső standardizálás sem. A főbb beállítási paraméterek az alábbiak voltak.

ICP-OES esetében a kicsatolt teljesítmény 1350 W, a plazmagáz áramlási sebesség 12,0 L perc⁻¹, a porlasztógáz áramlási sebesség 1,0 L perc⁻¹, a segédgáz áramlási sebesség pedig 1,0 L perc⁻¹ volt. A mintafelszívás 50 fordulat per perc sebességgel történt fehérnarancs pumpacsővel, melynek belső átmérője 0,64 mm volt. A plazmamegfigyelés minden elem tekintetében axiálisan történt, az integrálási idő 10-10 sec volt alacsony és magas hullámhossz tartományban. Koncentrikus porlasztót használtam ciklonos

ködkamrával. A vizsgált elemek és hullámhosszuk (nm) a következők voltak: Al (394,401), B (208,959), Ba (455,403), Ca (315,887), Fe (238,204), K (766,490), Mg (279,079), Na (818,326), P (213,618), S (182,034), Sr (407,771) és Zn (213,856).

ICP-MS esetében a kicsatolt teljesítmény 1400 W, a plazmagáz áramlási sebesség 14,0 L perc⁻¹, a porlasztógáz áramlási sebesség 0,86 L perc⁻¹, a segédgáz áramlási sebesség pedig 0,88 L perc⁻¹ volt. A mintafelszívás 20 fordulat per perc sebességgel történt sárga-narancs pumpacsővel, melynek belső átmérője 0,508 mm volt. A kvadrupól rudak feszültségét (pole bias) -16,0 V-ra, a hexapól rudak feszültségét (hexapole bias) pedig -10,0 V-ra állítottam. Az izotóponkénti mérési idő (dwell time) 100 ms, az átfutások száma (sweep) 9, az ismétlésszám (main run) pedig 3 volt. Ütközési- és reakciócella (CCT) gázként H₂-He keveréket alkalmaztam 7:93 arányban, melynek áramlási sebessége 6 mL perc⁻¹ volt. Koncentrikus porlasztót használtam, Peltier hűtésű (2°C) kúp alakú ködkamrával. A mintázó és a merítő kónusz is nikkeltől készült. A többi paramétert a mérést megelőzően napi szinten állítottam, abból a célból, hogy maximalizáljam az ⁵⁹Co, ¹¹⁵In és ²³⁸U jel nagyságát és minimalizáljam a Ba²⁺/Ba⁺ és a CeO⁺/Ce⁺ arányát a „tune” oldatból. A vizsgált izotópok az ⁵¹V, ⁵²Cr, ⁵⁵Mn, ⁵⁹Co, ⁶⁰Ni, ⁶⁵Cu, ⁹⁵Mo, ¹¹¹Cd, ¹³³Cs, ¹³⁹La, ¹⁴⁰Ce, ¹⁴¹Pr, ¹⁴⁶Nd, ¹⁴⁷Sm, ¹⁵³Eu, ¹⁵⁷Gd, ¹⁵⁹Tb, ¹⁶³Dy, ¹⁶⁵Ho, ¹⁶⁶Er, ¹⁶⁹Tm, ¹⁷²Yb, ¹⁷⁵Lu és a ²³⁸U voltak.

A párhuzamosan (három ismétlésben) végzett vizsgálatok esetében a megbízhatósági intervallumot az alábbi képlet segítségével számoltam ki:

$$c = \bar{x} \pm \frac{t \cdot s}{\sqrt{n}}$$

ahol \bar{x} az átlagot, t a Student-féle együtthatót, s a szórást, n pedig a mérések számát jelöli. A Student féle együtthatót Galbács et al. (2008) által közölt táblázatból kerestem ki, mely három ismétlés esetén 95%-os biztonsági szinten 4,303 (Galbács et al., 2008).

4.7. A labortisztaság és a kimutatási határ kapcsolata

A szennyezések négy különböző forrásból származhatnak, úgy mint a vizsgálat környezetéből, a felhasznált reagensekből, a felhasznált eszközökből, illetve az előkészítést és mérést végző személytől (Murphy, 1976). Az analitikai vakban tapasztalható magas koncentrációt okozhatja pl. a laborban lévő por, mely általában a Földön nagy mennyiségben előforduló, vagy antropogén eredetű elemek forrása. A laboratóriumban előszeretettel használt boroszilikát üveg jelentős mennyiségben tartalmaz nyomelemeket, illetve meg is kötheti a mintában lévőket (Richter et al., 2016).

Ennek alternatívája a kvarc, poli(tetrafluor-etilén) (PTFE), perfluoroalkoxi (PFA), tetrafluormetoxil (TFM), fluorozott etilén-propilén (FEP), polietilén (PE) vagy polipropilén (PP) eszközök használata a minták tárolására és/vagy előkészítésére (Knapp és Schramel, 2003).

A nyomelem analitikában jelentős forrása lehet a szennyezésnek a reagensek szennyezettsége. Ezért nem elég, ha analitikai tisztaságú vegyszereket alkalmazunk. Az egyik lehetőség a nyomelemanalitikai tisztaságú vegyszerek használata, ami egy egyszerű és kényelmes módja a felhasználásnak, de a költségeket jelentősen megnöveli. A másik lehetőség, ha a rendelkezésre álló analitikai tisztaságú vegyszereket tovább tisztítjuk (Richter et al., 2016).

Az előbb elmondottaknak megfelelően a lehetőségekhez képest a lehető legtisztább körülményeket igyekeztem kialakítani. A környezetből származó szennyeződés kiküszöbölésére a használt felületeket rendszeresen tisztítottam, illetve amennyiben lehetőség volt rá, a mintákat papírral fedtem le a külső szennyezések bekerülése ellen. A szűrőpapírokat rendszeresen cseréltem.

A víz tisztítását MilliQ (Millipore Corp., Bedford, MA, USA) rendszer végezte, ami a csapvízből két lépésben 18,2 M Ω cm ellenállású ioncserélt vizet állított elő. A második legnagyobb mennyiségben használt vegyszer a salétromsav volt. Ehhez a tisztítást egy Milestone subPUR (Milestone Srl, Sorisole, Olaszország) forráspont alatt desztilláló rendszer segítségével oldottam meg.

A gyártási por okozta szennyezések kivédésére a felhasznált gyári műanyag eszközöket első lépésben 2% (m/m)-os HNO₃-ban áztattam legalább 3 napig, majd nagy tisztaságú vízben áztattam legalább 1 napig. Ezt követően ioncserélt vízzel átöblítettem és tiszta szűrőpapíron szárítottam az eszközöket szűrőpapírral lefedve, majd tiszta zacskóban tároltam ezeket a felhasználásig. Ilyen tisztítási folyamaton esett át az összes felhasznált műanyag eszköz, azaz a pipettahegyek, a Pasteur pipetták, a műanyag kémcsövek, a centrifugacsövek, a beméréshez használt kanalak, illetve a poharak, melyekbe a szükséges mennyiségű reagenseket kitöltöttem felhasználás előtt.

A keresztszennyezések elkerülésére minden minta előkészítésekor új műanyag eszközöket használtam. A roncsoláshoz használt kvarccsövek tisztításakor először ioncserélt vízzel többször előblítettem őket. Ezt követően fültisztító pálcával átdörzsöltem a belső felületét és ismételten többször átöblítettem ioncserélt vízzel, majd hagytam megszáradni.

A munkafolyamatokat minden esetben púdermentes gumikesztyűben végeztem, mely egyrészt biztonsági intézkedés, de a minta szennyeződésének elkerülését is szolgálja. A különböző munkafolyamatok között, illetve ha elszennyeződött, gumikesztyűt cseréltem.

4.8. Az összes fenolos vegyület meghatározása

A polifenol-tartalmat a különböző extrahálási körülményekkel készült tinktúrák elemzésére használtam, melyet Folin-Ciocalteu módszere alapján végeztem (Singleton et al., 1999), amelyben kisebb módosításokat tettem. A vizes kivonatokból 10-szeres, az 50% (v/v)-os etanollal készült kivonatokból 50-szeres, míg a 80 és 100% (v/v)-os etanoltartalmú kivonatokból 250-szeres hígítást készítettem 80% (v/v)-os etanollal. Az oldatokat nem szűrtem újra, mivel korábban már le lettek szűrve. A hígításokból 0,5 mL-t mértem be kémcsövekbe, és hozzáadtam 2,5 mL 0,2 mol L⁻¹ Folin-Ciocalteu reagenst, majd 5 perc múlva 2 mL 75 g L⁻¹ koncentrációjú Na₂CO₃ oldatot adagoltam mindegyik mintához. Szobahőmérsékleten, sötét helyen 2 órán keresztül tároltam a mintákat. A kalibrálásort galluszsav oldatból készítettem ugyanilyen módon, a kalibrálópontok koncentrációi 0–200 mg L⁻¹ között voltak. Az oldatok abszorbanciáját Nicolet Evolution 300 (Thermo Electron Corporation, Madison, WI, USA) UV-Vis spektrofotométerrel határoztam meg 10 mm-es küvettában, 760 nm-en. Az eredményt galluszsav ekvivalensben (mg GAE L⁻¹) adtam meg.

4.9. A flavonoid-tartalom meghatározása

A flavonoid-tartalom meghatározását a különböző extrahálási körülményekkel készült tinktúrák elemzésére használtam, melyet Zhishen et al. (1999) módszere alapján végeztem, melyen kisebb módosításokat tettem. A vizes kivonatokból 10-szeres, a többi kivonatból pedig 50-szeres hígítást készítettem 80% (v/v)-os etanollal. Az oldatokat nem szűrtem újra, mivel korábban már le lettek szűrve. A hígításokból 1 mL-t mértem be kémcsövekbe és 4 mL 80% (v/v)-os etanolt pipettáztam minden mintához. Ezután 0,3 mL 5%-os NaNO₂-et, 5 perccel később 0,3 mL 10%-os AlCl₃ oldatot, 1 perc múlva pedig 2 mL 1 M NaOH-ot adtam hozzá. Végül 10 mL-re egészítettem ki 80% (v/v)-os etanollal. A kalibrálásort katechin törzsoldatból hígítottam és ugyanilyen módon készítettem elő. Az abszorbanciájukat a 4.8 alfejezetben említett UV-Vis spektrofotométerrel mértem 10 mm-es küvettában, 510 nm-en. Az eredményeket katechin ekvivalensben (mg CE L⁻¹) adtam meg.

4.10. A felhasznált szoftverek

Az ICP-OES és az ICP-MS készülékek vezérlése az iTEVA 2.8.0.97 és a Thermo PlasmaLab 2.5.10.319 szoftverekkel történt. A statisztikai értékelésre IBM SPSS 22.0 szoftvert használtam, melyen belül az egytényezős varianciaanalízist (ANOVA) és a Tukey tesztet, a Pearson-féle korrelációt, a főkomponens analízist és a lineáris diszkriminancia analízist alkalmaztam. Az eredmények értékelésére és a diagramok készítésére a Microsoft Excel 2013-as verzióját használtam. A propoliszok származását a Google My Maps segítségével jelöltem a térképen.

5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

5.1. A mintaelőkészítési és mérési módszer értékelése

5.1.1. A kimutatási és meghatározási határok, a tisztaság és a keresztszennyezés

A kimutatási határ rendkívül fontos teljesítményjellemző a nyomelem-analitikában, ugyanis a mérési módszernek a roncsolt mintákban akár ng L^{-1} vagy pg L^{-1} koncentrációk kimutatására is képesnek kell lennie. Ez csak akkor lehetséges, ha az analitikai vakban mért koncentrációkat kellően alacsony szinten tudjuk tartani, és a mintában a mért jel nagyság a vak szórásának 3-szorosa fölött van. Emellett az az ideális, ha a felhasznált reagensek a lehető legkisebb koncentrációban vannak jelen, ezáltal is minimalizálható a bevitt szennyezők mennyisége.

Kezdetben $0,1000 \pm 0,0100$ g nyers mintához 1 mL HNO_3 + 0,3 mL H_2O_2 reagenst adagoltam, ami nem volt elég hatékony a minták megfelelő roncsolásához, ugyanis a propoliszból szilárd részek maradtak vissza a kvarccsőben, a mikrohullámú roncsolást követően. Ezért szükség volt a 2 + 0,6 mL HNO_3 - H_2O_2 használatára, ami a roncsolást követően már egy homogén oldatot produkált, 0,1000 g minta bemérése mellett. A kvarccsövek tisztítása többszöri ioncserélt vizes öblítéssel és kidörzsöléssel történt a roncsolások között. Annak ellenére, hogy a csöveket nem áztattam savban és nem alkalmaztam más tisztítási lépést, a kimutatási határokat egy elem kivételével kellően alacsonyan tudtam tartani a nyers propoliszok előkészítése során. Roncsolásonként 3-3 analitikai vakot helyeztem el a sorozatban, mindig más teflonedényben az előző roncsoláshoz képest. A kimutatási határok (LOD) meghatározásához a vak szórásának 3-szorosát, a meghatározási határok (LOQ) számításához pedig a vak szórásának 10-szeresét osztottam az érzékenységgel. A magas (ICP-MS mérés esetében 500-szoros, ICP-OES esetében pedig 100-szoros) hígítási faktor ellenére a La kivételével az említett elemekre minden vizsgált nyers propolisz mintákban mérhető koncentrációkat kaptam. A La a minták egy részében az LOD alatt volt, emiatt az eredetazonosítás során ezt az elemet nem használtam fel az elkülönítéshez. Az eredeti, szilárd mintára vonatkozó kimutatási határok a következő sorrendben alakultak az ICP-MS-sel mért elemeknél: $0,0957$ – $0,686 \mu\text{g kg}^{-1}$ között volt a Lu, Tm, Ho, Tb, Eu, Er, Yb, Dy, Gd, Pr, U, Cs és a Sm, $1,51$ – $14,8 \mu\text{g kg}^{-1}$ között volt a Nd, La, Ce, Co, Cd, V és a Mo, míg $39,0$ – $55,5 \mu\text{g kg}^{-1}$ között alakult a Ni, Cu, Mn és a Cr kimutatási határa (8. táblázat). Az ICP-OES-sel mért elemek közül a kimutatási határ $0,0811$ – $0,639 \text{ mg kg}^{-1}$ között volt a Sr, Ba és a B, $1,28$ – $6,91 \text{ mg kg}^{-1}$ között a Zn, Fe, Mg, P, S, Al, Na és a K elemeknél, a legmagasabb kimutatási határral pedig a Ca rendelkezett, $56,7 \text{ mg kg}^{-1}$ értékkel (9. táblázat).

A tinktúrák elemtartalmának meghatározásához a fent említett roncsolási módszert használtam, azzal a különbséggel, hogy többségében 2 mL tinktúrát mértem be a kvarccsövekbe és tömegállandóságig szárítottam őket. A bemért 2 mL tinktúrából a visszamaradó szárazanyag kb. 0,1 g vagy az alatti volt, így ugyanaz az előkészítési módszer alkalmazható volt rá, mint a nyers propoliszokra. A 2,5 mL extrahálószerrel végzett beállítás esetében csak 1 mL-t mértem be, mert a kivonat szárazanyag-tartalma meghaladta volna a 0,1 g-ot. A tinktúrák esetében is kiszámoltam az LOD és LOQ értékeket, melyeket 2 mL bemérésre vonatkoztatva a 8. és 9. táblázat tartalmaz.

8. táblázat: A nyers propoliszokban és tinktúrákban tapasztalt kimutatási és meghatározási határok az egyes ICP-MS-sel mért elemekre

mért elem és izotópja	kimutatási határ (LOD)		meghatározási határ (LOQ)	
	nyers propolisz ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	tinktúra ($\mu\text{g L}^{-1}$)	nyers propolisz ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	tinktúra ($\mu\text{g L}^{-1}$)
⁵¹ V	12,4	0,0157	41,3	0,0523
⁵² Cr	55,5	0,750	185	2,50
⁵⁵ Mn	53,5	0,490	178	1,63
⁵⁹ Co	4,29	0,0828	14,3	0,276
⁶⁰ Ni	39,0	1,30	130	4,33
⁶⁵ Cu	40,9	0,0734	136	0,244
⁹⁵ Mo	14,8	0,211	49,3	0,703
¹¹¹ Cd	4,22	0,0904	14,1	0,301
¹³³ Cs	0,601	0,00110	2,00	0,00366
¹³⁹ La	1,53	0,00987	5,09	0,0329
¹⁴⁰ Ce	3,17	0,0153	10,6	0,0509
¹⁴¹ Pr	0,478	0,00674	1,59	0,0224
¹⁴⁶ Nd	1,51	0,0463	5,03	0,154
¹⁴⁷ Sm	0,686	0,0185	2,28	0,0616
¹⁵³ Eu	0,196	0,00186	0,653	0,00619
¹⁵⁷ Gd	0,421	0,00435	1,40	0,0145
¹⁵⁹ Tb	0,154	0,00234	0,513	0,00779
¹⁶³ Dy	0,370	0,00699	1,23	0,0233
¹⁶⁵ Ho	0,127	0,00117	0,423	0,00390
¹⁶⁶ Er	0,223	0,00221	0,743	0,00736
¹⁶⁹ Tm	0,123	0,00205	0,410	0,00683
¹⁷² Yb	0,229	0,00429	0,763	0,0143
¹⁷⁵ Lu	0,0957	0,00136	0,319	0,00453
²³⁸ U	0,529	0,00517	1,76	0,0172

9. táblázat: A nyers propoliszokban és tinktúrákban tapasztalt kimutatási és meghatározási határok az egyes ICP-OES-sel mért elemekre

vizsgált elem és hullámhossza (nm)	kimutatási határ (LOD)		meghatározási határ (LOQ)	
	nyers propolisz (mg kg ⁻¹)	tinktúra (mg L ⁻¹)	nyers propolisz (mg kg ⁻¹)	tinktúra (mg L ⁻¹)
Al (394,401)	4,94	0,0111	16,5	0,0370
B (208,959)	0,640	0,0209	2,13	0,0696
Ba (455,403)	0,258	0,00340	0,859	0,0113
Ca (315,887)	56,7	0,961	189	3,20
Fe (238,204)	2,10	0,0153	6,99	0,0509
K (766,490)	6,91	0,101	23,0	0,336
Mg (279,079)	2,94	0,0239	9,79	0,0796
Na (818,326)	5,31	0,121	17,7	0,403
P (213,618)	3,00	0,0629	9,99	0,209
S (182,034)	4,47	0,0999	14,9	0,333
Sr (407,771)	0,0811	0,00140	0,270	0,00466
Zn (213,856)	1,29	0,0302	4,30	0,101

Az alacsony hígítási faktor (ICP-OES-nél a minták többségében 5-szörös, ICP-MS-nél általában 25-szörös) miatt a tinktúrákban a kimutatási határok jóval kedvezőbbek, mint a nyers propoliszoknál tapasztaltak. Annak ellenére, hogy a kimutatási határok rendkívül alacsonyak voltak, a tinktúrákban számos elemnél előfordult, hogy a vak szórásának háromszorosa alatt volt az elemek koncentrációja a mintákban. Ez az alacsony átviteli hatásfokkal magyarázható, mint ahogy a későbbi eredményekből látszani fog.

A teflonedényen belüli keresztzennyezés vizsgálatára beállítottam olyan teflonedényt, melyben a 3 kvarccső egyike propoliszt tartalmazott (M), míg a másik két kvarccső nem tartalmazott mintát, csak a roncsoló közeget (V) (9. ábra).



9. ábra: A keresztzennyezés ellenőrzése a teflonedényen belül elhelyezett kvarccsövek között

A minta nélküli csövekben a vizsgált elemek mindegyike kimutatási határ alatt volt. Az eredményből az látszik, hogy nincs átszennyezés a teflonedényen belül elhelyezett kvarccsövek között. Tehát akár egymástól független vagy párhuzamos minták is elhelyezhetők és roncsolhatók ugyanazon a teflonedényen belül.

5.1.2. Pontosság ellenőrzése spike-visszaméréssel

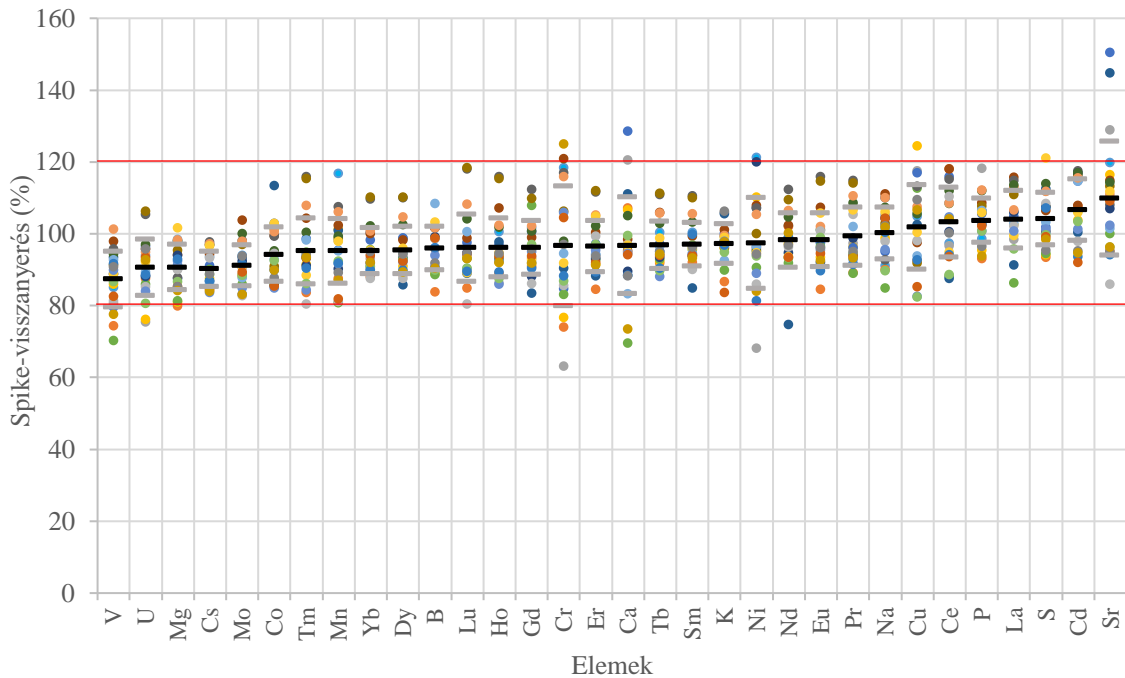
A pontosság a valódi, tényleges elemtartalom és a mérés során meghatározott koncentráció közötti egyezés mértékét fejezi ki. A nyers mintákból készült roncsolatok lemérésére több mint 12 mérési alkalom volt szükséges, amely minták mérésénél minden mérési periódusban legalább 1, de a legtöbb esetben 2 minta spike-olásával ellenőriztem a pontosságot. Ennek eredményeként összesen 22 spike-visszamérést végeztem a nyers minták elemzése kapcsán.

A spike-visszamérések során egy véletlenszerűen kiválasztott nyers propolisz mintához ismert koncentrációban adtam hozzá a mért elemeket, majd a spike-olt mintában a koncentráció növekedését az eredeti mintában mért eredményekkel hasonlítottam össze. A visszamért és a hozzáadott analit mennyiségek hányadosa alapján egy százalékos értéket kaptam, ami ideális esetben 100%-hoz közeli, de 80–120% között még elfogadhatónak tekinthető. Az átlagos visszamérések 87,4–109,9% között alakultak a V, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Mo, Cd, Cs, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu, U (ICP-MS) és a B, Ca, K, Mg, Na, P, S és a Sr (ICP-OES) elemek esetében. Ha figyelembe vesszük az összes spike-visszamérés átlag±szórását is, akkor a V visszamérhetősége a legkisebb 79,6%-kal, illetve a Sr-é a legnagyobb 125,8%-kal. Ezek az értékek még elfogadhatónak tekinthetők. A spike-visszamérések a *10. ábrán* láthatóak. Az egyes visszaméréseket színes pontokkal jelöltem, ezek elemenkénti átlagát fekete, szórását pedig szürke téglalapokkal tüntettem fel. Az Al, Ba, Fe és Zn elemek esetében a mintában mért koncentrációjuk és a spike-ként hozzáadott mennyiségük nem állt megfelelő arányban. Túl alacsony volt a hozzáadott spike mennyisége a mintában lévő koncentrációhoz képest, ezért ezeket a spike visszaméréseket nem tudtam értékelni az előbb említett 4 elemnél. Ezért ezeket az elemeket magasabb koncentrációban adagolva a mintákhoz ismét elvégeztem a spike-olást, és 86,6, 119,6, 100,0 és 101,5% visszanyerést kaptam.

A tinktúrák roncsolásakor és mérésekor ugyancsak ellenőriztem a spike-visszamérést, amit azért emelek ki külön, mert a tinktúrák előkészítése során egy bepárlást alkalmaztam

az extrahálószer eltávolítására. Ez a bepárlás pedig esetlegesen befolyásolhatta a tinktúrák elemösszetételét, az illékony elemek távozhattak.

A tinktúrák adalékolását értékelve azt kaptam, hogy a legkisebb és a legnagyobb spike-visszamérés értéke 83,4 és 116,2%, az átlagos értéke pedig 99,1% volt az összes elem vonatkozásában. Ez alapján az előkészítés pontosságát nem befolyásolta a mintaelőkészítés során alkalmazott, 40°C hőmérsékleten végzett bepárlás. Összességében pedig elmondható, hogy a spike-visszamérés alapján megfelelő a módszer pontossága.



10. ábra: A spike-visszamérések százalékos értéke a nyers propolisz mintákból (n=22)

5.1.3. Pontosság ellenőrzése referenciamintákkal

A roncsolás megfelelőségét és a mérés pontosságát propolisz hitelesített referenciaminta analízisével lehetett volna a legmegbízhatóbban ellenőrizni. Mivel ilyen mintát nem találtam az interneten fellelhető kínálatban, ezért más növényi eredetű mintát roncsoltam és mértem minden mérési periódusban. Egy-egy mérés során egy körvizsgálatból származó rizsszalma (*Oryza sativa*) vagy egy nádféle (*Miscanthus sp.*) (Wageningen Evaluating Program for Analytical Laboratories) szolgált referenciamintaként. A mért értékeket összehasonlítottam az éves jelentésben közölt értékekkel azon elemek esetében, melyeket mértem és a jelentésben is közölték a mintában lévő koncentrációjukra vonatkozó adatokat. Ezen felül elvégeztem egy BCR 189 teljes kiőrlésű liszt referenciaminta mérését is. A kapott eredményeket a 10. és 11. táblázatban foglaltam össze. Ezek néhány kivétellel jó összhangban vannak az elméleti

értékekkel, így a módszer pontossága ez alapján is megfelelő. Ahol jelentősebb eltérést tapasztaltam a körvizsgálati minta értékétől, az elsősorban azzal magyarázható, hogy a referencia értéket is nagy bizonytalansággal (magas szórással) adták meg.

10. táblázat: Körvizsgálatból származó rizsszalma és egy nádféle jelentésben közölt és mért értékei

elemek (mérték- egység)	rizsszalma (<i>Oryza sativa</i>)			nádféle (<i>Miscanthus sp.</i>)		
	jelentésben közölt érték (medián ±MAD)	mért érték (átlag±bizony- talanság)	egyezés mértéke (%)	jelentésben közölt érték (medián ±MAD)	mért érték (átlag±bizony- talanság)	egyezés mértéke (%)
Al* (mg kg ⁻¹)	143±34	110±20	77,1	256,5±166	253±7	98,8
B (mg kg ⁻¹)	11,0±4,0	12,6±1,7	114,6	3,583±0,623	3,09±1,29	87,6
Ba (mg kg ⁻¹)	23,6±3,2	23,8±2,5	100,8	18,37±1,50	18,3±0,5	94,9
Ca (g kg ⁻¹)	3,25±0,150	2,98±0,60	91,8	3,100±0,210	2,74±0,10	89,6
Cd (µg kg ⁻¹)	10,0±3,0	12,6±4,5	126,2	115,0±8,7	129±7	108,8
Co (µg kg ⁻¹)	208±23	194±27	93,1	83,33±11,27	72,3±6,2	100,7
Cr (µg kg ⁻¹)	6630±1840	9800±1700	147,8	1168±116	830±293	83,5
Cs (µg kg ⁻¹)	48,6±8,3	52,0±7,0	106,9	56,75±15,35	33,4±3,5	58,9
Cu (mg kg ⁻¹)	3,00±0,24	2,98±0,35	99,4	4,240±0,625	4,07±0,50	99,8
Fe (mg kg ⁻¹)	172±23	170±40	98,9	350,0 ±39,0	326±2	91,7
K (g kg ⁻¹)	15,7±1,03	14,1±1,5	89,8	3,585±0,260	3,46±0,50	95,8
Mg (g kg ⁻¹)	1,18±0,063	1,13±0,12	95,8	0,8400±0,0410	0,804±0,100	96,4
Mn (mg kg ⁻¹)	336±35	340±62	101,2	68,48±4,95	65,6±4,0	94,4
Mo (µg kg ⁻¹)	2000±290	2220±373	111,1	1201±129	1070±80	92,5
Na (mg kg ⁻¹)	88,0±16,28	97,7±12,4	111,0	92,00±10,92	92,3±2,2	109,2
Ni (µg kg ⁻¹)	5440±1240	6160±920	113,1	440,3±60,7	359±22	86,6
P (g kg ⁻¹)	0,776±0,044	0,830±0,087	107,0	0,7720±0,042	0,775±0,030	101,2
S (g kg ⁻¹)	0,810±0,058	0,907±0,102	111,9	0,7845±0,054	0,821±0,067	107,6
Sr (mg kg ⁻¹)	12,3±1,00	12,2±1,7	99,0	6,950±0,300	7,30±0,22	100,7
V (µg kg ⁻¹)	300±9,0	308±62	102,7	982±110,0	783±112	93,2
Zn (mg kg ⁻¹)	17,3±2,32	17,6±2,2	101,8	28,27±2,17	27,3±1,2	97,4

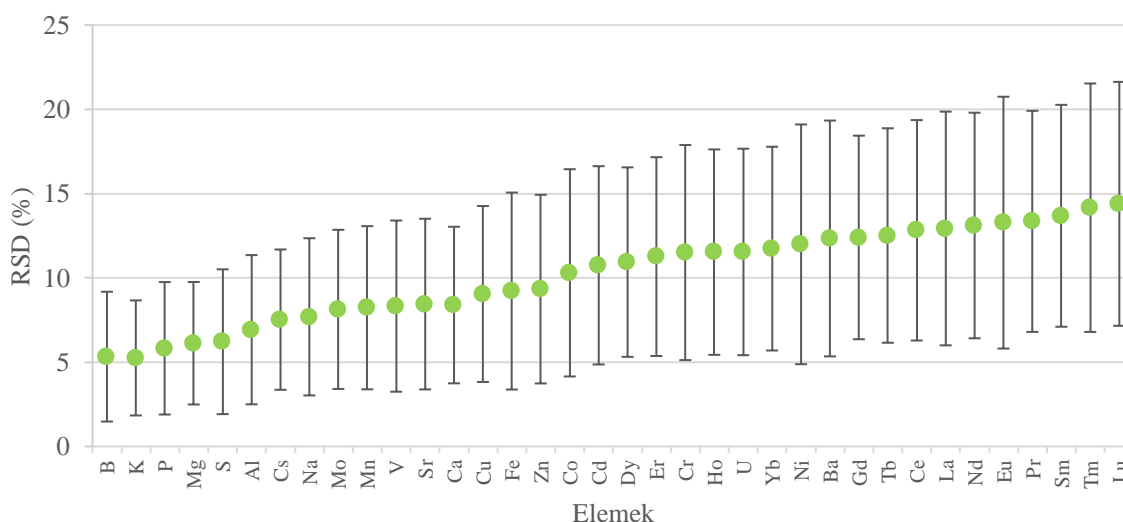
*savoldható teljes elemtartalom; MAD: medián abszolút eltérés

11. táblázat: BCR 189 teljes kiőrlésű liszt referenciaminta mért, hitelesített, valamint tájékoztató jellegű értékei

elemek (mértékegység)	hitelesített érték ± bizonytalanság	tájékoztató jellegű érték	mért érték ± bizonytalanság	egyezés mértéke (%)
Ca (g kg ⁻¹)	-	0,52	0,503±0,040	96,7
Cd (μg kg ⁻¹)	71,3±3	-	67,5±2,2	94,7
Cr (μg kg ⁻¹)	-	57–73	47,4±20,9	-
Cu (mg kg ⁻¹)	6,4±0,2	-	5,85±0,22	91,4
Fe (mg kg ⁻¹)	68,3±1,9	-	63,7±3,2	93,3
K (g kg ⁻¹)	-	6,3	5,45±0,02	86,5
Mn (mg kg ⁻¹)	63,3±1,6	-	56,3±1,7	88,9
Na (g kg ⁻¹)	-	0,04	0,0357±0,0007	89,3
Ni (mg kg ⁻¹)	-	0,38	0,303±0,072	79,7
P (g kg ⁻¹)	-	5,3	5,35±0,05	100,9
Zn (mg kg ⁻¹)	56,6±1,7	-	57,1±0,5	100,9

5.1.4. Megismételhetőség

A megismételhetőség a rövid időn belül (párhuzamosan) mért, ugyanazon minták eredménye közti különbséget jellemzi. Értékét kifejezhetjük a szórással (SD), illetve a relatív szórással (RSD). Összesen 252 nyers propolisz esetében határoztam meg a módszer megismételhetőségét 3 párhuzamos minta mérése mellett. A 252 nyers propolisz minta esetében tapasztalt RSD értékek átlagát és szórását a 11. ábra szemlélteti a vizsgált elemekre vonatkozóan.



11. ábra: A nyers propoliszok elemkoncentrációinak mérése során tapasztalt relatív szórás (RSD) 3 ismétlés esetén (n=252)

Azt tapasztaltam, hogy az ICP-OES-sel mért makro- és mikroelemek relatív szórása a Ba kivételével általában alacsonyabb. Az átlagos megismételhetőséget figyelembe véve 5,3–9,2% az RSD értéke, míg a Ba-é 12,3%. Az ICP-MS-sel meghatározott mikroelemeké ezeknél kissé magasabb, 7,5–12,0% közötti, míg a ritkaföldfémek és az U esetében az RSD átlagos értéke 10,9–14,4% közé esik.

5.1.5. Reprodukálhatóság

A reprodukálhatóság valamilyen mérési körülmény megváltoztatása hatására tapasztalt különbséget jelenti, ugyanazon minta mért értékei között. A megváltoztatott körülmény lehet pl. a mérési idő, a mérést végző személy vagy a környezeti tényezők. A módszer reprodukálhatóságát az eltérő időben elvégzett mérések során ellenőriztem. Két alkalommal lemértem egy véletlenszerűen kiválasztott propolisz roncsolat elemösszetételét ICP-MS technikával. A mérések eredményét a 12. táblázatban foglaltam össze.

12. táblázat: Egy véletlenszerűen kiválasztott propolisz mintában két különböző alkalommal mért elemkoncentrációk, ICP-MS technikával ($\mu\text{g kg}^{-1}$)

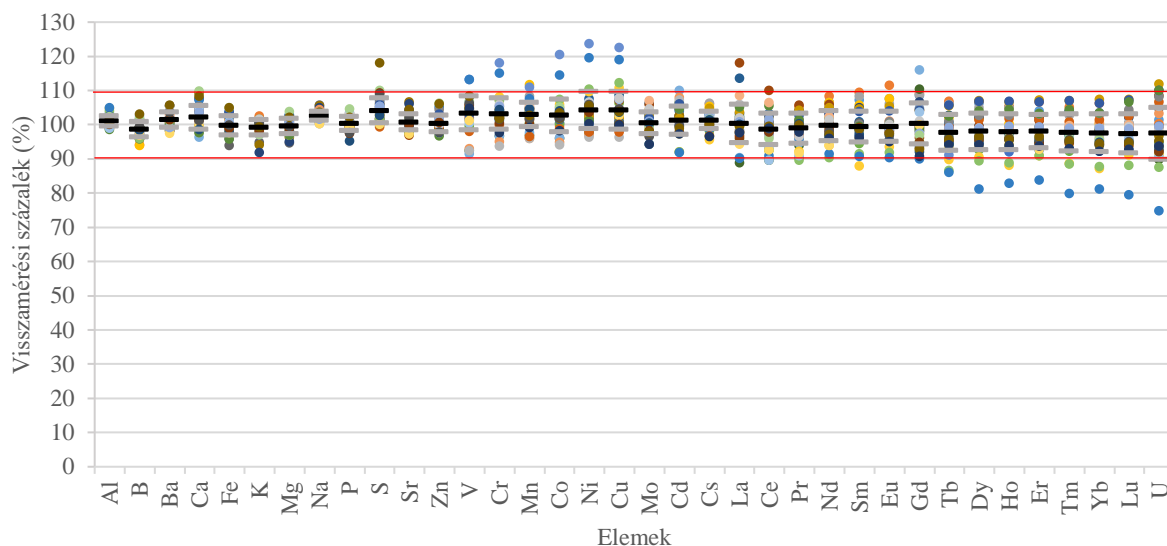
	V	Cr	Mn	Co	Ni	Cu	Mo	Cd
1. átlag	203	560	5510	129	415	1780	69,0	45,4
±bizonytalanság	±25	±35	±940	±17	±189	±70	±12,7	±9,4
2. átlag	207	537	5170	130	399	1810	62,3	40,3
±bizonytalanság	±17	±32	±690	±10	±174	±100	±6,4	±6,5
egyezés (%)	102,0	95,9	93,8	100,8	96,1	101,7	90,3	88,8
	Cs	La	Ce	Pr	Nd	Sm	Eu	Gd
1. átlag	15,1	109	201	23,0	87,4	17,5	12,5	17,9
±bizonytalanság	±0,7	±7	±10	±3,7	±5,5	±1,5	±1,0	±2,2
2. átlag	13,7	110	208	20,3	85,8	15,8	12,8	17,5
±bizonytalanság	±1,5	±12	±15	±2,2	±7,7	±2,2	±2,5	±2,2
egyezés (%)	90,7	100,9	103,5	88,3	98,2	90,3	102,4	97,8
	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu	U
1. átlag	2,42	11,8	2,33	5,90	1,03	4,85	0,858	7,69
±bizonytalanság	±0,32	±4,0	±0,67	±1,00	±0,42	±0,92	±0,696	±2,01
2. átlag	2,95	11,0	2,00	5,90	0,65	4,80	0,635	8,06
±bizonytalanság	±0,12	±1,7	±0,12	±1,41	±0,17	±0,65	±0,151	±0,62
egyezés (%)	121,9	93,2	85,8	100,0	63,1	99,0	74,0	104,8

A minta ismételt mérése során kapott átlagos elemkoncentrációk a legtöbb elem esetében jó egyezést mutatnak az első mérés eredményéhez képest. A legnagyobb eltérést a Tm-nál tapasztaltam, ami elsősorban a rendkívül kis koncentrációval magyarázható.

Leellenőriztem ennek az elemnek a mérési eredményét két különböző roncsolásból származó körvizsgálati minta esetében is. Ebben az esetben a különbség kisebb volt a két mérési eredmény között, hiszen $0,592 \pm 0,072$ és $0,470 \pm 0,065 \mu\text{g kg}^{-1}$ értékeket kaptam ugyanabból a rizsszalmából két egymást követő méréskor. Elmondható, hogy a módszer reprodukálhatósága megfelelő az eltérő mérési időben végzett mérések között.

5.1.6. Rendszeralkalmasság

Mivel viszonylag hosszú (akár 8-10 órás) mérési sorozatokat végeztem, ezért szükség volt a mérési módszer stabilitásának ellenőrzésére. Ehhez legalább 25 mintánként a multielemes kalibrációs sor 10%-os pontját mértem vissza minőségellenőrző (QC) oldatként. A nyers propolisz roncsolatok mérése során kapott 34 QC oldat visszamérését szemlélteti a 12. ábra. Színes pontokkal jelöltem az egyes visszaméréseket, míg fekete, illetve szürke téglalappal a visszamérések átlagát, illetve a szórását.



12. ábra: A QC oldatok visszamérési százaléka az ICP-OES és ICP-MS mérések során (n=34)

Az figyelhető meg, hogy a visszamérések jelentős része 90–110% közötti intervallumban megegyezik a kalibráció során kapott értékkel, tehát a mérés során előforduló „drift”, az érzékenység változás mértéke elfogadható. Ennek mérséklésére, illetve a mátrixhatás kiküszöbölésére az ICP-MS mérésnél belső standard-ként Rh-ot használtam. Ezáltal jellemzően $\pm 10\%$ -on belül volt a QC oldat visszamérése. Ugyanakkor a visszamérések értékei nagyobb szórást mutattak azoknál az elemeknél, melyeket ICP-MS-sel mértem az ICP-OES-sel meghatározottakkal szemben. Egy QC oldat visszamérésénél figyelhető meg jelentősebb hiba, a 157-es tömegszámú Gd-nál nagyobb tömegű izotópoknál (^{159}Tb – ^{238}U). Ehhez a mérési periódushoz tartozó minták mérését

megismételtem. Ugyan az ICP-OES meghatározás során nem alkalmaztam belső standard korrekciót, de kedvezőbb visszamérési hatékonyságot tapasztaltam a QC oldatokra, ugyanis az átlagos visszamérés 98,7 és 104,2% közötti az egyes elemekre, emellett alig fordult elő, hogy a visszamérés rosszabb lett volna, mint 90–110%. Ezek alapján a mérési módszer kellően stabilnak tekinthető az ICP-MS és ICP-OES esetében egyaránt.

5.1.7. A mintaátbocsátási képesség és a „zöld kémia”

Az általam használt roncsolási módszerrel az egyik cél az volt, hogy a mikrohullámú roncsoló korlátozott mintaátbocsátási képességét javítsam, ami az alkalmazott technikával sikerült. A bemérést követően egy éjszakán át állni hagytam a savat a mintákon, ezért naponta csak egy sorozatnyi minta futtatható le, ha egy készletnyi kvarccsővel rendelkezünk. Viszont a csövek savban állására vagy egyéb tisztítására nem szükséges hosszabb idő, a tisztítást egy egyszerű ioncserélt vizes mosással meg lehet oldani. A csövek száradását követően bemérhető a következő adag nyers propolisz, melyet másnap lehet roncsolni. Mivel a teflonedényekbe egyszerre 3-3 kvarccövet lehet elhelyezni maximálisan, ezért a roncsolás mintaátbocsátási képessége akár háromszorosára is nőhet. A mintaelőkészítésre hosszabb időt kellett szánni a tinktúrák esetében, ugyanis a kíméletes, de lassabb bepárlás az extrahálószerrel függően 2-4 napig tartott. Viszont ezt követően a nyers propolisznál elmondott előnyökkel rendelkező a módszer.

Napjainkban nagy figyelmet kapnak a környezetbarát analitikai módszerek, melyek minimalizálják a minták előkészítéséhez és méréséhez szükséges vegyszer és energiaszükségletet, a keletkező hulladékok mennyiségét, a vizsgálathoz szükséges mintamennyiséget. Mindezek az analitikai módszerek különböző területeit érintik, melyet összefoglaló néven „zöld kémia”-ként emlegetnek (Bendicho et al., 2012; Richter és Pirola, 2017). A mikrohullámú előkészítés már egy lépést jelent a kedvezőbb energiaszükséglet felé a hagyományos, nyitott, nedves roncsolási lehetőségekhez képest. Az általam használt Milestone Start D mikrohullámú roncsoló esetében ugyanakkor legalább 8 mL folyadéknak kell a teflonedényben lennie (pl. 7 mL HNO₃ + 1 mL H₂O₂), ahhoz, hogy a hőmérsékletszenzor megfelelően mérhessen, és biztonságosan elő lehessen készíteni a mintákat. Ezzel szemben sikerült a hagyományos mikrohullámú roncsolásnál alacsonyabb mennyiségű salétromsavval (2 mL) és hidrogén-peroxiddal (0,6 mL) megvalósítani egy minta előkészítését. Ráadásul a szükséges mintamennyiség is kevesebb, ami kedvező abból a szempontból, hogy sok esetben korlátozott

mennyiségben álltak rendelkezésre a méréshez felhasználható propoliszok. Ugyanakkor más felhasználási területen is alkalmas lehet ez a roncsolási módszer a későbbiekben, pl. olyan biológiai minták előkészítésére, amelyekből csak kis mintamennyiség érhető el.

5.2. A nyers propoliszok elemtartalmi összetétele

5.2.1. A nyers propoliszok elemkoncentrációinak statisztikai jellemzői

A 252 vizsgált hazai nyers propolisz minta leíró statisztikai jellemzőit a *13. táblázat* foglalja össze. A statisztikai jellemzők közt szerepel az átlag, a szórás, a medián, a minimum, a maximum, valamint néhány ezekből levezetett összefüggés, mint a maximum és a minimum hányadosa, valamint az átlag és a medián aránya. Feltüntettem a minták eloszlására vonatkozó információkat is, mint a ferdeség, illetve a csúcsosság.

A statisztikai jellemzők alapján megállapítható, hogy a koncentráció értékek széles tartományban fordulnak elő. A minimumot és a maximumot összehasonlítva az látható, hogy nagy eltérés van köztük. A legkisebb eltérés is 9,0-szeres, míg mindegyik másik elemnél ez 10-szeres érték fölötti. Ez azt jelenti, hogy az elemekre kapott koncentrációk a Mg kivételével nem egy nagyságrenden belül találhatóak. A maximum és minimum koncentráció hányadosa 25 alatti az Al, B, Ca, K, Mg, Mn, Na, P, S, Cs, Ce, Pr, Nd, Sm, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm és Yb elemeknél. Két nagyságrenden belüli a koncentrációja, vagyis 100 alatti a legmagasabb és a legalacsonyabb koncentrációk hányadosa az előbb említett elemeken felül a Cu, Fe, Sr, Co, Mo, Lu és az U elemeknek. Több mint 100-szoros eltérést figyeltem meg a Ba, Zn, V, Cr, Ni, Cd és az Eu elemeknél a legmagasabb és a legalacsonyabb koncentráció között, ahol kiemelendő a Zn és a Ba, mivel a legnagyobb és a legkisebb mért koncentráció között 522-szeres és 1638-szoros különbséget találtam. A La a minták egy részében kimutatási határ alatt volt, emiatt néhány statisztikai jellemzőjét nem számoltam, de a mérhető értékek alapján hasonló tulajdonságokkal rendelkezett, mint a többi ritkaföldfém.

Az átlag és a medián összehasonlításából az is látszik, hogy az átlag minden esetben magasabb, mint a medián, ami jobbra ferde eloszlásra utal. Azoknál az elemeknél, ahol kicsi volt a legkisebb és a legnagyobb koncentráció közötti különbség, az átlag és a medián közötti hányados is alacsony (<1,30). Viszont ahol több mint 100-szoros volt a különbség a minimum és a maximum koncentráció között, azoknál az elemeknél az átlag és a medián aránya is magasabb, 1,73–2,97 közötti. Ez azzal magyarázható, hogy a mintahalmaz kiugró eredményeket tartalmaz ezeknél az elemeknél. Ennek szemléltetésére a *13. és 14. ábrán* a Mg, Na, Cd és a Ba hisztogramja látható.

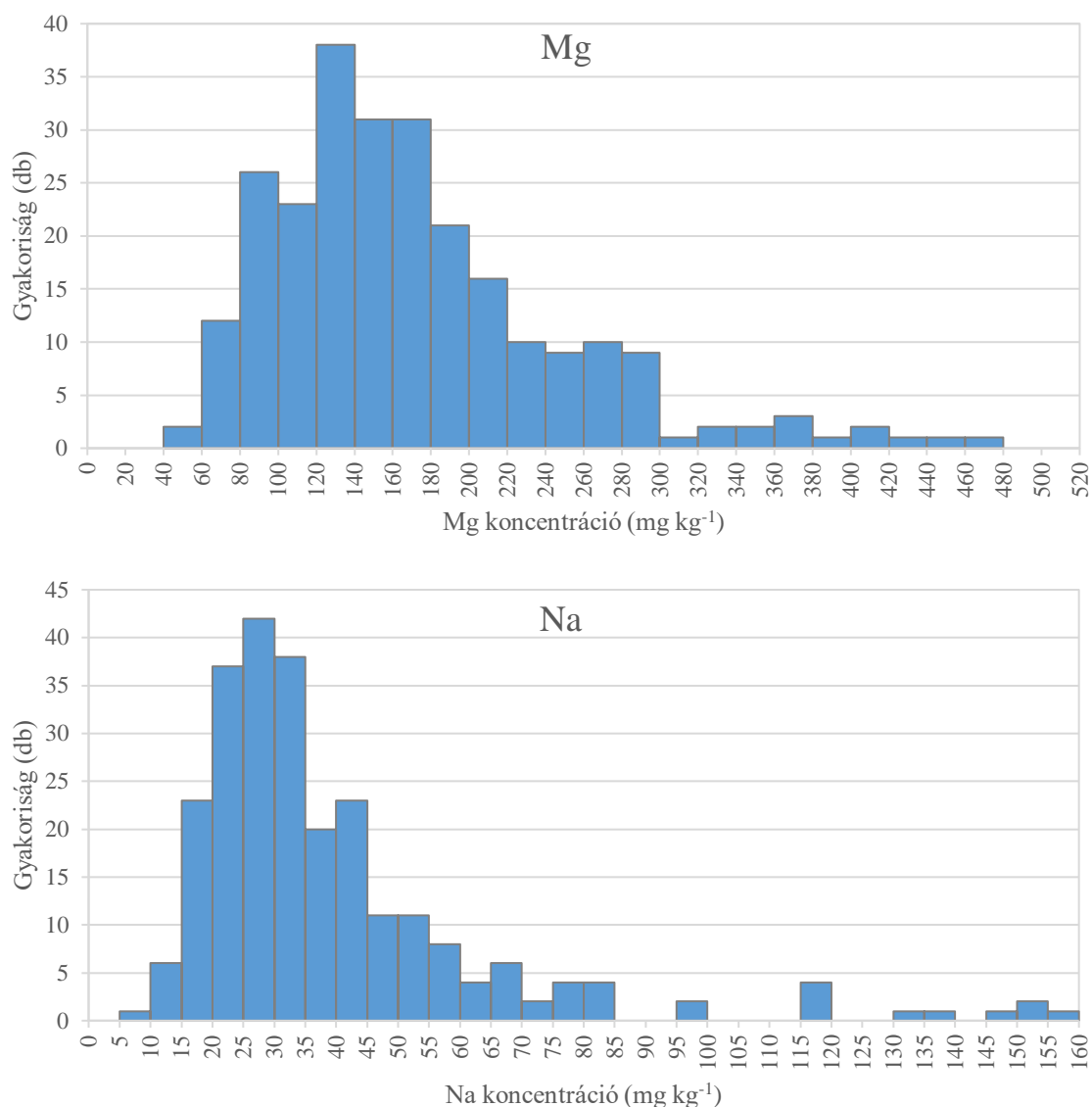
13. táblázat: A vizsgált hazai nyers propolisz minták leíró statisztikai jellemzői (n=252)

elemek	medi- án	átlag	szórás	mini- mum	maxi- mum	max / min*	átlag / medián*	ferde- ség*	csúcsos- ság*
K (mg kg ⁻¹)	792	900	414	289	3440	11,9	1,14	2,299	9,468
Ca (mg kg ⁻¹)	493	590	346	211	2600	12,3	1,20	2,413	8,243
S (mg kg ⁻¹)	234	256	118	90,4	1010	11,2	1,09	1,897	7,064
P (mg kg ⁻¹)	213	235	96	60,5	606	10,0	1,11	0,813	0,420
Fe (mg kg ⁻¹)	171	213	160	36,8	1450	39,3	1,25	3,215	16,74
Mg (mg kg ⁻¹)	156	171	77	51,8	465	9,0	1,09	1,279	1,963
Al (mg kg ⁻¹)	116	140	90	39,7	938	23,6	1,20	3,585	25,06
Zn (mg kg ⁻¹)	54,7	144	331	5,34	2790	522	2,63	5,209	30,62
Na (mg kg ⁻¹)	32,8	39,8	25,5	9,93	158	15,9	1,21	2,440	7,104
Ba (mg kg ⁻¹)	8,59	25,5	79,6	0,690	1130	1638	2,97	11,10	149,0
B (mg kg ⁻¹)	5,41	5,78	2,12	2,00	20,3	10,1	1,07	1,739	7,987
Mn (mg kg ⁻¹)	4,79	5,72	3,47	0,887	21,1	23,8	1,19	1,961	4,916
Sr (mg kg ⁻¹)	1,72	2,26	1,86	0,520	20,2	38,9	1,31	4,580	35,81
Cu (mg kg ⁻¹)	1,47	2,08	2,32	0,573	26,9	47,0	1,41	6,561	59,86
Cr (mg kg ⁻¹)	0,502	1,01	2,52	0,0909	38,4	422	2,01	13,13	193,4
Ni (mg kg ⁻¹)	0,283	0,573	2,227	0,0903	28,8	319	2,02	11,27	131,0
V (mg kg ⁻¹)	0,204	0,276	0,396	0,0578	5,81	101	1,35	11,29	153,9
Ce (mg kg ⁻¹)	0,182	0,229	0,157	0,0592	1,01	17,1	1,26	2,096	6,337
Co (mg kg ⁻¹)	0,103	0,163	0,197	0,0182	1,30	71,2	1,59	3,580	15,11
La (µg kg ⁻¹)	96,9	n.sz.	n.sz.	<1,53	544	n.sz.	n.sz.	1,940	6,169
Nd (µg kg ⁻¹)	77,1	97,1	69,1	25,5	476	18,6	1,26	2,446	8,608
Mo (µg kg ⁻¹)	76,7	91,7	80,5	17,0	889	52,2	1,20	6,747	60,17
Cd (µg kg ⁻¹)	33,3	64,1	131,8	5,99	1480	247	1,93	7,433	66,49
Pr (µg kg ⁻¹)	20,2	25,9	18,6	6,71	121	18,1	1,28	2,405	8,217
Gd (µg kg ⁻¹)	15,5	19,1	13,4	4,74	95,1	20,1	1,23	2,357	7,993
Sm (µg kg ⁻¹)	15,1	19,1	13,6	5,18	97,9	18,9	1,27	2,505	9,174
Cs (µg kg ⁻¹)	14,3	16,6	10,5	4,86	89,1	18,3	1,16	2,735	12,64
Dy (µg kg ⁻¹)	9,35	11,9	8,4	3,17	66,9	21,1	1,27	2,555	10,25
U (µg kg ⁻¹)	6,01	8,17	8,71	1,73	113	65,0	1,36	7,468	82,76
Eu (µg kg ⁻¹)	5,19	8,99	18,68	1,14	270	237	1,73	11,82	165,9
Er (µg kg ⁻¹)	5,11	6,32	4,35	1,65	35,2	21,4	1,24	2,453	9,809
Yb (µg kg ⁻¹)	3,91	5,01	3,59	1,20	29,5	24,6	1,28	2,617	10,96
Tb (µg kg ⁻¹)	2,02	2,53	1,70	0,641	12,9	20,1	1,25	2,229	7,789
Ho (µg kg ⁻¹)	1,78	2,22	1,57	0,562	12,7	22,5	1,24	2,518	10,19
Tm (µg kg ⁻¹)	0,643	0,796	0,570	0,191	4,33	22,7	1,24	2,427	8,833
Lu (µg kg ⁻¹)	0,542	0,697	0,506	0,106	3,99	37,8	1,29	2,497	9,656

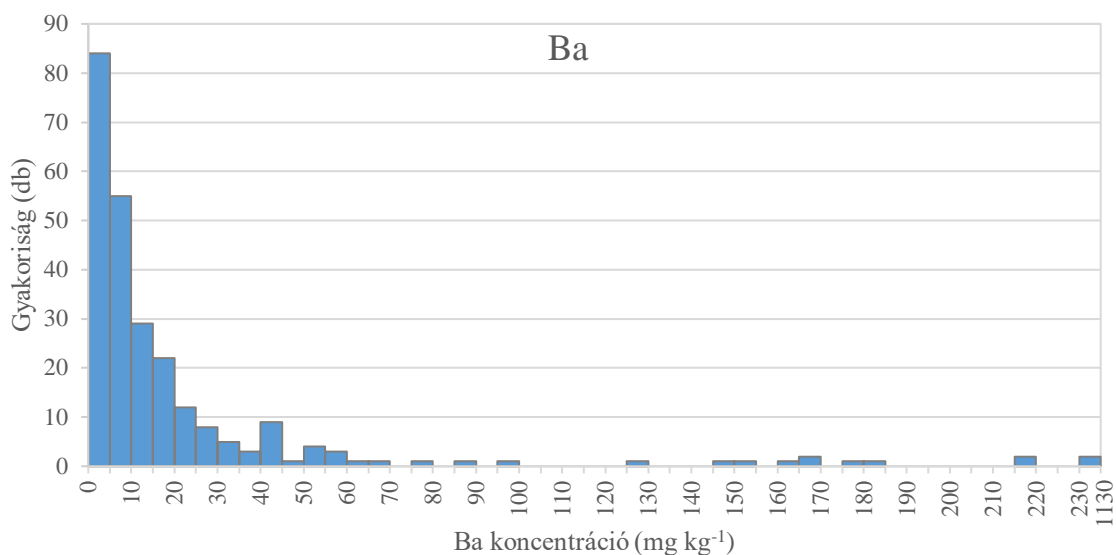
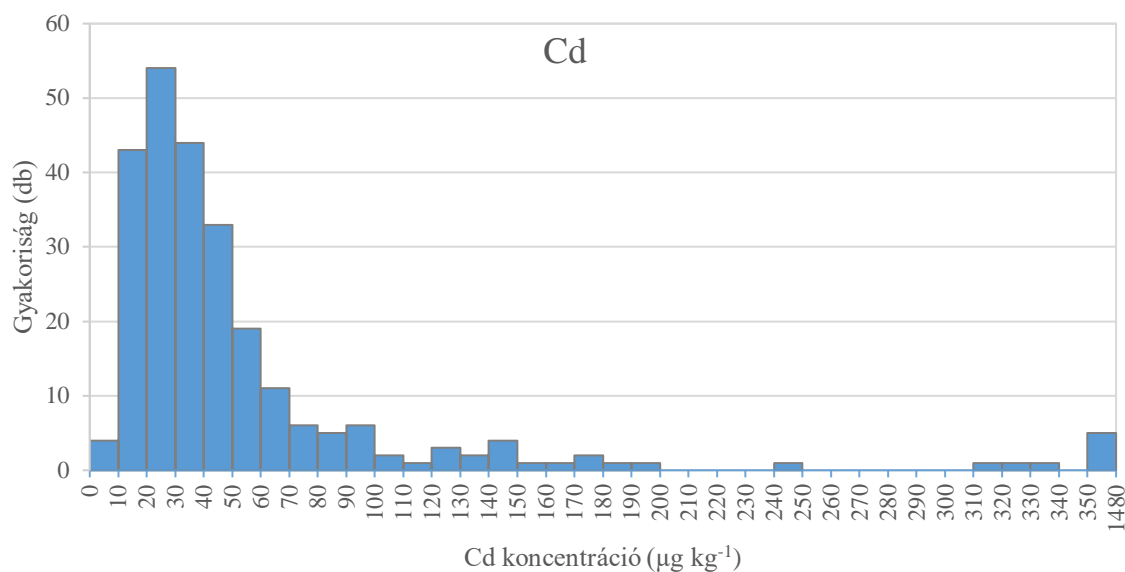
*nincs mértékegysége; n.sz.: nem számolható

Az figyelhető meg a Mg hisztogramján (13. ábra), hogy a Mg látszólag közel normál eloszlást mutat, ami az alacsony átlag és medián, valamint a minimum és maximum hányadosból is látszott. A 252 minta Mg koncentrációja 40–480 mg kg⁻¹ intervallum közé esik, az átlaga és a mediánja pedig 171 és 156 mg kg⁻¹ értékkel közel a jellemző koncentráció tartomány felénél található.

A Na hisztogramján (13. ábra) látható, hogy a legnagyobb mintaszámot tartalmazó intervallumtól (25–30 mg kg⁻¹) balra és jobbra az osztályok száma nem egyenletes. Míg balra csak 4, ezzel szemben jobbra 18 darab, azonos osztásközzel rendelkező osztály található, ahová be lehetett sorolni a mintákban mért koncentrációkat. A legnagyobb Na koncentrációjú minta a 155–160 mg kg⁻¹ intervallumba esik.



13. ábra: A Mg és a Na hisztogramja a vizsgált nyers propolisz mintákban (n=252)



14. ábra: A Cd és a Ba hisztogramja a vizsgált nyers propolisz mintákban (n=252)

A Cd esetében az átlag és a medián értéke $64,1 \mu\text{g kg}^{-1}$, illetve $33,3 \mu\text{g kg}^{-1}$, tehát közel kétszeres, 1,93-szoros a különbség köztük. A hisztogramon (14. ábra) a legnagyobb mintaszámú intervallumtól jobbra található az osztályok nagy része. A ferde eloszlásra lehet következtetni az alapján is, hogy a legnagyobb és a legkisebb koncentráció közötti hányados 247-szeres. A jobb áttekinthetőség és láthatóság érdekében a koncentráció skála jobb végén más osztásközt alkalmaztam ($350\text{--}1480 \mu\text{g kg}^{-1}$), mivel a többi mintához képest néhány propoliszban jóval magasabb koncentrációt mértem. A legnagyobb koncentrációjú minta $1480 \mu\text{g kg}^{-1}$ Cd-ot tartalmazott.

A Ba hisztogramja (14. ábra) erősen jobbra ferde eloszlású. A használt 5 mg kg^{-1} osztásközök mellett a legnagyobb mintaszámot tartalmazó osztály a skála bal oldalára szorul, vagyis 0 és 5 mg kg^{-1} közötti koncentrációban fordul elő a 252 mintából 84 db. A

Ba koncentráció növekedésével a mintaszám csökkenő tendenciát mutat. A medián 8,59 mg kg⁻¹, az átlagos koncentráció pedig 25,5 mg kg⁻¹. Ugyanakkor 200 mg kg⁻¹ fölötti Ba koncentrációkat is mértem 4 minta esetében, maximálisan 1130 mg kg⁻¹ koncentrációban.

Ezekből az eredményekből az látszik, hogy főleg a Ba, de a Na és a Cd esetében is nagy számban fordulnak elő olyan minták, melyeknek jóval az átlagos érték fölötti az említett elemek koncentrációja. Ezek miatt a hisztogramon az eloszlásuk jobbra ferde irányt mutat.

Ellenőriztem az eloszlást statisztikai próbák segítségével is, a ferdeség („skewness”) és a csúcsosság („kurtosis”) tekintetében (13. táblázat). A ferdeség mérőszáma lehet pozitív és negatív érték is. Pozitív érték esetén jobbra ferde, negatív érték esetén balra ferde eloszlásról beszélünk. Mint ahogy a hisztogram értékeléséből is kiderült, minden esetben pozitív értéket kaptam, ami ugyancsak jobbra ferde eloszlást igazol. A legalacsonyabb ferdeséggel a P rendelkezett (0,813), míg 1–2 érték közötti a ferdesége a Mg, Mn, S és a La elemeknek. A legtöbb elem ferdesége 2–3 közötti, ugyanakkor kiemelkedő, 11 körüli a ferdesége a Ba, Ni, V és az Eu elemeknek, 13 fölötti pedig a Cr értéke. A csúcsosság tekintetében 2 alatti az értéke a P és a Mg elemeknek, de más elemeknél sok esetben extrém magas a csúcsosság mutatója. A Ba, Ni, V, Eu és a Cr elemeknek 100 fölötti a csúcsosság értéke. Tehát az elemek többségéről elmondható, hogy koncentrációjuk erősen jobbra ferde és erősen csúcsos eloszlású a propoliszokban.

Elvégeztem a mintahalmaz eredményeinek normalitás vizsgálatát Kolmogorov-Smirnov és Shapiro-Wilk teszt segítségével egyaránt. Mivel mindkét tesztnél az összes elemre azt kaptam, hogy a szignifikancia kisebb, mint 0,05, ezért szignifikánsnak tekintettem mindkét teszt eredményét. Ez azt jelenti, hogy egyik elem eloszlása sem normális a halmazon belül, még a hisztogram alapján a leginkább normál eloszlást mutató Mg, vagy a ferdeség és csúcsosság tekintetében annak tűnő P eloszlása sem.

5.2.2. A nyers propoliszokban az elemek koncentráció szerinti sorrendje

Ahhoz, hogy a későbbiekben az elemkoncentrációk sorrendje alapján is összevethetőek legyenek a hazai propoliszok elemtartalmi eredményei más külföldi propoliszokéval, a mintáim elemtartalmi eredményei alapján felállítottam a csökkenő koncentrációk szerint sorrendet az elemek között.

Az általam vizsgált propoliszokban az átlagos koncentrációkat figyelembe véve a K van jelen a legnagyobb, 900 mg kg⁻¹ koncentrációban, melyet a Ca követ 590 mg kg⁻¹ értékkel. Ez alapján átlagosan 1,53-szor magasabb a vizsgált hazai propoliszok K-

tartalma a Ca-tartalmukhoz viszonyítva. Ugyanakkor ez mintánként eltérhet, ugyanis a minták kb. 10%-ában előfordul olyan is, ahol alacsonyabb káliumhoz magasabb kalcium érték párosul. A K és Ca koncentráció egymáshoz viszonyított aránya 0,358 és 3,46 között változik a 252 mintán belül.

Az előző példából adódóan nem lehet az elemekre olyan sorrendet felállítani, mely minden egyes mintára érvényes lenne. Ugyanakkor a vizsgált elemek átlagos koncentrációját figyelembe véve az elemek sorrendje a következőképpen alakul:

K>Ca>S>P>Fe>Mg>Zn>Al>Na>Ba>B>Mn>Sr>Cu>Cr>Ni>V>Ce>Co>Nd>Mo>Cd>
Pr>Gd=Sm>Cs>Dy>Eu>U>Er>Yb>Tb>Ho>Tm>Lu.

Van néhány olyan elem, mely szinte minden esetben magasabb koncentrációjú, mint a fenti sorrend szerint őt követő elem koncentrációja. A Ca koncentráció például egy kivétellel minden esetben magasabb, mint az átlagos koncentráció alapján a Ca-ot követő S koncentrációja. A koncentrációját tekintve ugyancsak szinte kivétel nélkül egymást követi az összes vizsgált propolisz mintában az Al és a Na, a Mn és a Sr, nyomelemek között a Pr és a Gd, valamint a Cs és a Dy. Ezeken felül az Er, Yb és Ho pedig minden esetben magasabb koncentrációjú, mint a sorrend alapján őket követő Yb, Tb és Tm.

Vannak olyan elemek, melyeknél az átlag alapján felállított sorrend az egyes mintákban több esetben nem érvényes. Például az átlagos sorrendjük alapján egymást követi a S, P, Fe és a Mg. Viszont a minták 43,3, 32,9 és 41,7%-ában ez a sorrend megfordult. Ráadásul számos mintában előfordult, hogy a Fe koncentrációja, sőt néhány esetben a Mg tartalma is megelőzte ugyanazon propolisz S koncentrációját.

A legnagyobb darabszámú eltérést az átlag alapján felállított, és az egyes mintákban tapasztalt sorrendet összevetve az Eu és az U, valamint a Zn és az Al között találtam, ahol a minták 68,3, illetve 83,3%-ában nem az átlag alapján felállított sorrend érvényesült. Ez a Zn és az Eu-nál tapasztalható kiugróan magas értékekkel magyarázható.

Amennyiben a medián szerint felállított sorrendet vesszük figyelembe, annyiban tér el a fent említettől, hogy az Al és a Zn, valamint az Eu és az U sorrendje felcserélődik. Ezáltal a hazai propoliszokat jobban jellemezhető sorrendet kapunk, melyben már a La is szerepelhet, ami a minták egy részében az LOD ($1,53 \mu\text{g kg}^{-1}$) alatt volt. A medián alapján a sorrend tehát: K>Ca>S>P>Fe>Mg>Al>Zn>Na>Ba>B>Mn>Sr>Cu>Cr>Ni>V>Ce>Co>La>Nd>Mo>Cd>Pr>Gd>Sm>Cs>Dy>U>Eu>Er>Yb>Tb>Ho>Tm>Lu.

5.2.3. A vizsgált nyers propoliszok elemtartalmának összehasonlítása irodalmi adatokkal

Az eredményeimet az irodalmi áttekintés *1. táblázatában* közölt értékekkel vettem össze, melyek dél-spanyolországi (Bonvehí és Bermejo, 2013), kínai (Gong et al., 2012), argentin (Cantarelli et al., 2011), horvát (Cvek et al., 2008), török (Dogan et al., 2006), valamint moldáv, mongol, orosz (Golubkina et al., 2016), chilei és spanyol (González-Martín et al., 2015) nyers propolisz minták eredményeit tartalmazzák.

A kálium az általam mért mintákban 900 ± 414 mg kg⁻¹ volt, ami hasonló, mint a legtöbb, mások által mért eredmény, de alacsonyabb, mint a dél-spanyolországi, viszont magasabb, mint a török és az orosz mintákban mért értékek. A dél-spanyolországi mintákban ráadásul a legalacsonyabb mért érték 735 mg kg⁻¹, ami a mintáim mediánjához (792 mg kg⁻¹) áll közel. A Ca átlagos koncentrációja többségében alacsonynak számít a mások által közöltekkel összevetve. A legnagyobb eltérés szintén a dél-spanyolországi mintákkal szemben figyelhető meg. Az általuk mért legalacsonyabb érték 1773 mg kg⁻¹, míg a mintáim átlagos Ca tartalma mindössze 590 ± 346 mg kg⁻¹, de a legmagasabb mért érték is csak 2600 mg kg⁻¹. A többi irodalmi adattal összehasonlítva megfigyelhető, hogy azokban a K átlagos koncentrációja alacsonyabb a Ca-éhoz viszonyítva, szemben az általam mért értékekkel, ahol a K koncentrációja átlagosan 1,53-szorosa a Ca koncentrációjának.

A P és S ugyanabban a nagyságrendben van jelen a mintáimban, 256 ± 118 mg kg⁻¹ és 235 ± 96 mg kg⁻¹ koncentrációban. A mások által mért mintákban a P 123–404 mg kg⁻¹ között fordul elő átlagosan, ugyanakkor a S tartalmat mindössze a dél-spanyol mintákban határozták meg 671 ± 236 mg kg⁻¹ koncentrációban, ami valamelyest magasabb, mint a hazai propoliszokban tapasztalt értékek. A török mintákban a S koncentrációja kimutatási határ alatt volt. A Fe a mintáimban átlagosan 213 ± 160 mg kg⁻¹ koncentrációban fordult elő, ami megközelítőleg hasonló, vagy egy kissé alacsonyabb a legtöbb kutatásban közölt átlagos eredményhez viszonyítva. Ugyanakkor ennél számottevően magasabb eredményeket mértek a kínai (1188 ± 508 mg kg⁻¹) mintákban. Más kutatók eredményei között is megfigyelhető, hogy nagy eltérés van az általuk mért legmagasabb és a legalacsonyabb Fe koncentráció között. Például a chilei és spanyol minták esetében ez az eltérés 33,4-szeres, míg esetemben ez 39,3-szeres.

A Mg átlagosan 171 ± 77 mg kg⁻¹ koncentrációban fordult elő a 252 vizsgált propoliszban, ami szintén a dél-spanyolországi (814 ± 318 mg kg⁻¹) és a kínai (552 ± 294 mg kg⁻¹) mintákhoz képest mutatott számottevően alacsony értéket, de a többi

közölt eredményhez viszonyítva hasonló. A mintáimban az összes elemet tekintve a Mg tekintetében volt a legalacsonyabb a maximum és a minimum koncentrációk aránya (9,0). Ez a dél-spanyol, kínai, horvát és a török mintákhoz hasonlóan alacsony, de a chilei és spanyol minták esetében publikált maximum és a minimum értékek aránya ennél magasabb, 22-szeres.

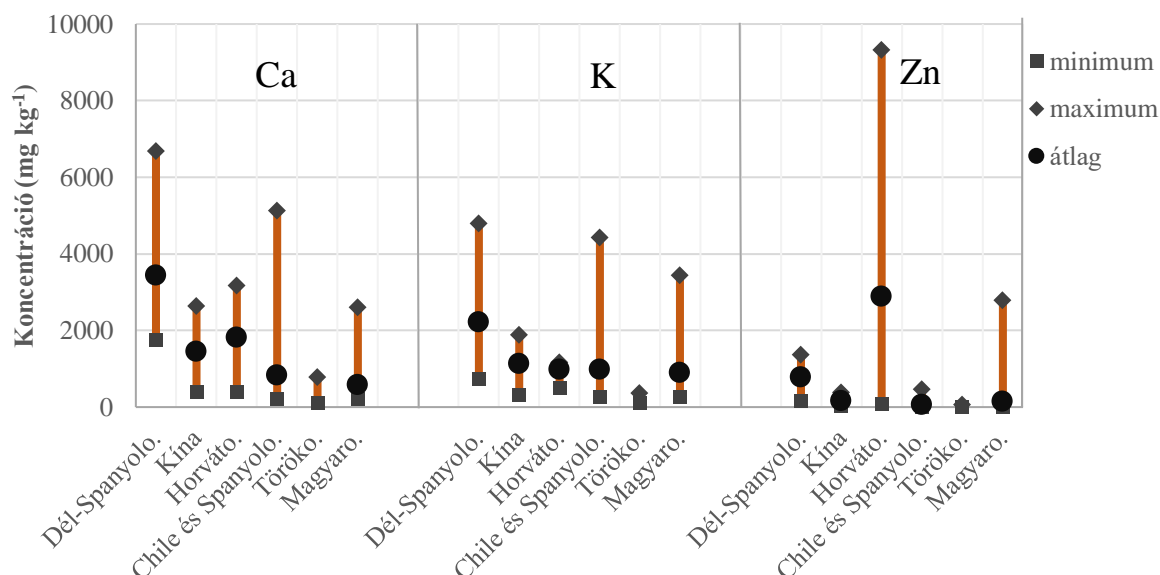
Az Al a mintáimban 140 ± 90 mg kg^{-1} koncentrációban fordult elő átlagosan. Ebben az esetben a kínai (961 ± 461 mg kg^{-1}), a spanyol ($460 \pm 62,2$ mg kg^{-1}) és a horvát ($403 \pm 81,4$ mg kg^{-1}) minták értékétől tér el leginkább. A Zn számos kiugróan magas érték miatt 144 ± 331 mg kg^{-1} átlaggal és szórással volt mérhető a hazai mintákban. A külföldi mintákra vonatkozó eredmények nagy részére ehhez hasonló, vagy akár ennél alacsonyabb átlagos koncentrációk jellemzőek. Ugyanakkor a dél-spanyol és horvát mintákra ennél magasabb átlagot állapítottak meg, valószínűleg a kiugróan magas Zn koncentrációk miatt. A horvát minták közt előfordult 9326 mg kg^{-1} koncentráció is, ráadásul a legkisebb mért érték $80,1$ mg kg^{-1} . Ez több mint 100-szoros különbség a legnagyobb és legkisebb eredmény között, sőt az általuk mért legmagasabb Zn koncentráció magasabb, mint bármely vizsgált elem koncentrációja a mintáimban. A Na a mintáimban jellemzően alacsonyabb, vagy hasonló koncentráció tartományban van ($9,93$ – 158 mg kg^{-1}), mint az említett szakirodalmakban. Ugyanakkor a kínai és török propoliszokban számottevően magasabb koncentráció tartományban határozták meg a Na-ot, $42,2$ – 1708 mg kg^{-1} illetve 412 – 1416 mg kg^{-1} között.

Az említett kutatások közül mindössze Cvek et al. (2008) végezték el a Ba koncentrációjának meghatározását. A horvát propoliszokban számottevően szűkebb koncentráció tartományban találták a Ba-ot, mivel $5,43$ – 124 mg kg^{-1} között volt jelen, szemben az általam mért $0,690$ – 1130 mg kg^{-1} tartománnyal. A további 1 – 10 mg kg^{-1} koncentrációjú elemek közül a B és a Cu koncentrációi nagyon hasonlóak az említett kutatások eredményeihez. A Sr-nak $2,66$ – $12,43$ mg kg^{-1} közötti az átlagos értéke a többi kutatásban, míg a mintáimban jellemzően alacsonyabb, $2,26 \pm 1,86$ mg kg^{-1} koncentrációban volt jelen. A Mn esetében a moldáv, mongol és orosz minták hasonlítanak leginkább a magyar propoliszokhoz, míg a dél-spanyol, kínai és horvát propoliszok jellemzően magasabb átlagos koncentrációjúak.

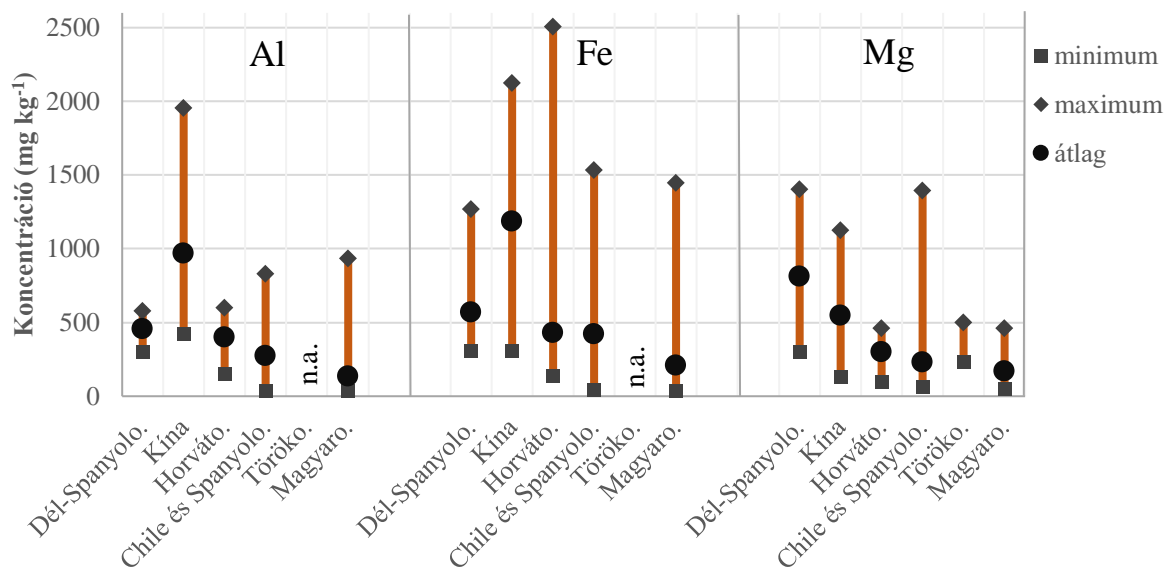
A V, Cr, Co, Ni és Cd elemek tekintetében az általam mért koncentrációk nagyságrendileg megegyeznek az említett kutatásokban közöltekkkel. A Mo, Cs és az U koncentrációjára nem találtam eredményt az említett publikációkban. Egyes ritkaföldfémek mennyiségét csak az argentin propoliszokban mérték. A La, Ce, Sm és az

Eu a 96 argentin propoliszban $0,09\text{--}1,18\ \mu\text{g kg}^{-1}$, $0,30\text{--}2,60\ \mu\text{g kg}^{-1}$, $0,07\text{--}0,21\ \mu\text{g kg}^{-1}$, illetve $0,01\text{--}0,28\ \mu\text{g kg}^{-1}$ koncentráció tartományban volt mérhető. A mintáimban mért tartománya ettől ugyanakkor 2-3 nagyságrenddel magasabb, mivel $<1,53\text{--}544\ \mu\text{g kg}^{-1}$; $59,2\text{--}1010\ \mu\text{g kg}^{-1}$, $5,18\text{--}97,9\ \mu\text{g kg}^{-1}$ és $1,14\text{--}270\ \mu\text{g kg}^{-1}$ koncentrációban mértem ezeket az elemeket. A drasztikus eltérés adódhat az argentin és a magyar botanikai- vagy talajviszonyok különbségéből. Az eltérést esetleg a két mérés technika közötti különbség is okozhatja, mivel Cantarelli et al. (2011) neutronaktivációs analízissel (NAA) végezték a meghatározást, szemben az általam használt ICP-MS-sel. Ennek ellentmond, hogy mindketten ellenőriztük a módszer pontosságát és jónak találtuk. Ugyanakkor felvetődhet az is, hogy esetükben mértékegység elírásról van szó, és az általuk közölt értékek valójában mg kg^{-1} egységben vannak kifejezve. Ebben az esetben jó lenne az egyezés az általuk közölt és az általam mért értékek között.

Összességében a mért koncentrációk többnyire hasonló nagyságrendben fordulnak elő, mint az említett kutatásokban közölt eredmények. Mégis a leggyakrabban a dél-spanyolországi és a kínai propoliszokban tapasztaltam ennél számottevően magasabb értékeket. A fent említett publikációkban közölt, külföldi nyers propoliszokra vonatkozó eredményeket, illetve a hazai mintákra vonatkozó eredményeimet a 15. ábra szemlélteti a Ca, K, Zn, Al, Fe és Mg elemek átlagos koncentrációjára, illetve koncentráció tartományára vonatkozóan.



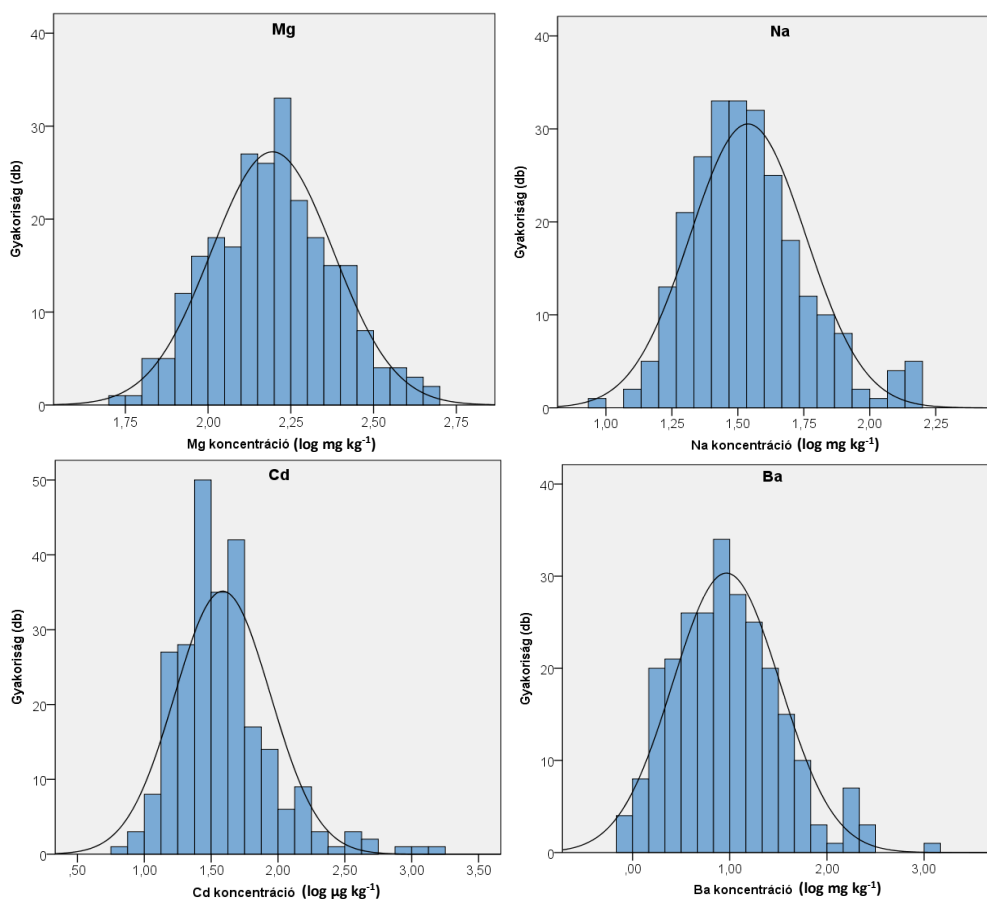
15. ábra: A külföldi mintákban, illetve a saját eredményeim alapján a magyarországi nyers propoliszokban mért Ca, K, Zn, Al, Fe és Mg elemek átlagos koncentrációja, valamint koncentráció tartománya; n.a.: nincs adat



15. ábra: Folytatás.

5.2.4. A nyers propoliszok földrajzi eredetének azonosítása

A földrajzi eredet szerinti elkülönítés lehetőségét 252 hazai nyers propolisz esetében vizsgáltam. A mintáknak ismert volt a településszintű származása, de a földrajzi elkülönítést régió szintjén ellenőriztem. A csoportok közötti szignifikáns különbségek feltárására alkalmas lehet az egytényezős varianciaanalízis (ANOVA) is, melyet első lépésként szerettem volna elvégezni a különböző régiókból származó minták összevetésére. Előbb viszont megvizsgáltam, hogy a változók megfelelnek-e az ANOVA feltételeinek. Egyik feltétele, hogy a független változóknak normál eloszlásúaknak kell lenniük. A hisztogramot, a ferdeséget és a csúcsosságot megvizsgálva ez a feltétel szinte egy esetben sem teljesült. Annak érdekében, hogy az ANOVA, majd a későbbiekben a lineáris diszkriminancia analízis (LDA) jól alkalmazható legyen, a koncentráció értékek tízes alapú logaritmusát vettem figyelembe az összehasonlítás során. A logaritmikus skálán ábrázolt eredményekre igaz az, hogy nem befolyásolják a minták egymáshoz viszonyított sorrendjét, és ugyanúgy elvégezhető rajtuk az ANOVA (Székelyi és Barna, 2002). A logaritmizált koncentráció értékek eloszlását a 16. ábrán lévő hisztogramok mutatják a Mg, Na, Cd és Ba elemekre. A 16. ábrán látszik, hogy a logaritmikus skálán ábrázolt hisztogramok sokkal inkább követik a Gauss görbe szerinti normál eloszlást.



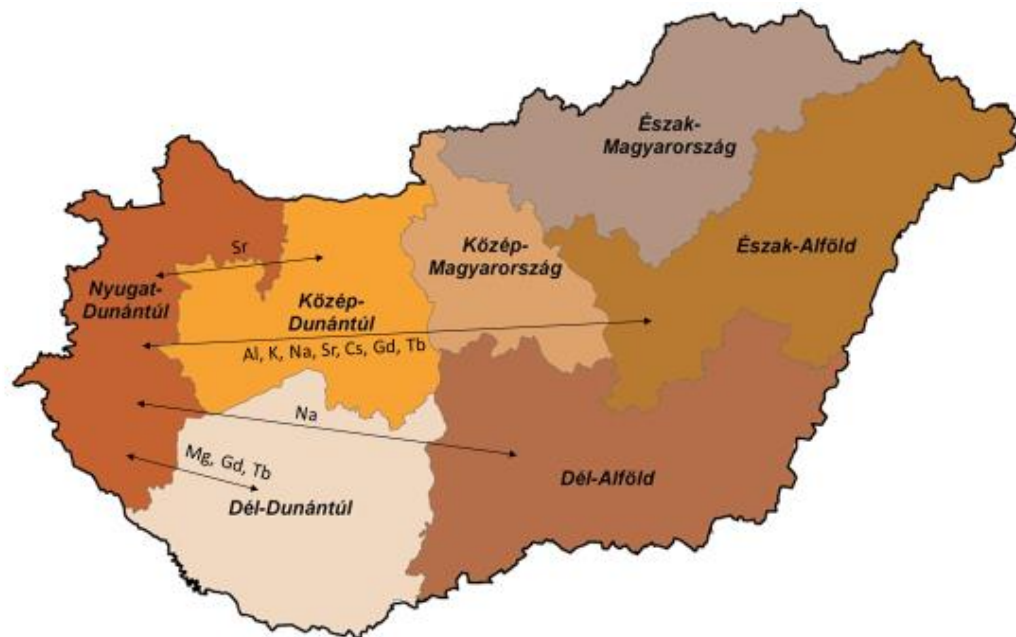
16. ábra: A Mg, Na, Cd és Ba koncentrációk tízes alapú logaritmikus skálán ábrázolt hisztogramja a vizsgált nyers propolisz mintákban (n=252)

A 14. táblázat mutatja a „normalizált” eloszlású minták ferdeségét és csúcsosságát. Az látható, hogy ezek az értékek jóval közelebb állnak a nullához, vagyis a normál eloszláshoz, mint a nem logaritmikus skálán ábrázolt értékek. Az elemek jelentős részére most már igaz az, hogy a ferdesége és/vagy csúcsossága ± 1 -es érték közötti. Azokat az elemeket, melyek csúcsossága vagy ferdesége ebben az esetben is meghaladta az 1-et, nem vettem figyelembe az ANOVA során, valamint a kemometriai módszerekkel sem értékeltem. Ez alapján kizártam az értékelésből a Cd, Cr, Cu, Eu, Mo, Ni, U, V és Zn elemeket. A Cd, Cr, Cu és Zn környezeti indikátorként egyébként is gyakran vizsgált elemek, a koncentrációjukra hatással lehet az emberi tevékenység (Conti és Botrè, 2001; Roman et al., 2011). A La koncentrációját pedig amiatt nem értékeltem, mivel a minták egy részében kimutatási határ alatt volt a koncentrációja. A fennmaradó elemeknél a Kolmogorov-Smirnov, valamint a Shapiro-Wilk teszt az elemek egy részénél eltérő eredményre vezetett, de többségében megerősítik, hogy normál eloszlásúak az eredmények (14. táblázat). Ugyanakkor a normalitás feltételeinek megsértése nem feltétlenül vezet hibás eredményre, a varianciaanalízis robusztusnak tekinthető (Sajtos, 2007a).

14. táblázat: A logaritmusos skálára transzformált elemkoncentrációk statisztikai jellemzői a hazai nyers propolisz mintákban (n=252); nincs mértékegységük

elemek	ferdeség	csúcsosság	Kolmogorov-Smirnov	Shapiro-Wilk
K	0,374	0,525	0,200	0,030
Ca	0,589	0,340	0,056	<0,0005
S	0,270	-0,069	0,200	0,118
P	-0,191	-0,110	0,200	0,207
Fe	0,427	0,243	0,066	0,021
Mg	0,103	-0,199	0,200	0,751
Al	0,372	0,156	0,200	0,013
Zn	1,279	2,317	<0,0005	<0,0005
Na	0,671	0,609	0,002	<0,0005
Ba	0,547	0,360	0,200	0,001
B	0,006	0,549	0,200	0,430
Mn	0,230	0,150	0,200	0,184
Sr	0,553	0,527	0,049	0,021
Cu	1,078	1,877	<0,0005	<0,0005
Cr	0,785	1,314	<0,0005	<0,0005
Ni	2,155	10,313	<0,0005	<0,0005
V	1,106	3,561	0,001	<0,0005
Ce	0,274	-0,441	0,200	0,003
Co	0,707	0,576	<0,0005	<0,0005
Nd	0,349	-0,235	0,200	0,001
Mo	0,538	2,788	0,007	<0,0005
Cd	1,232	2,807	<0,0005	<0,0005
Pr	0,340	-0,272	0,200	0,002
Gd	0,275	-0,229	0,200	0,014
Sm	0,346	-0,204	0,200	0,002
Cs	0,378	0,098	0,200	0,022
Dy	0,384	-0,158	0,200	0,006
U	0,832	1,325	0,001	<0,0005
Eu	0,709	1,172	0,004	<0,0005
Er	0,320	-0,202	0,200	0,024
Yb	0,378	-0,096	0,200	0,019
Tb	0,273	-0,359	0,200	0,014
Ho	0,318	-0,174	0,200	0,020
Tm	0,343	-0,172	0,200	0,030
Lu	0,378	0,022	0,200	0,586

Az ANOVA alapján szignifikáns különbséget tapasztaltam egyes régiók propoliszainak a logaritmizált koncentráció értékeiben. Az eredmények azt mutatták, hogy a nyugat-dunántúli régió mintái több más régió mintáitól elkülöníthetők (17. ábra). Szignifikánsan különböznek ($p < 0,05$) az észak-alföldi régióból származó mintáktól a nyers propoliszok logaritmizált Al, K, Na, Sr, Cs, Gd és Tb koncentrációja tekintetében. Ugyancsak szignifikáns különbséget mutatott a dél-dunántúli propoliszokhoz viszonyítva azok Mg, Gd és Tb koncentrációja alapján. Szignifikáns különbséget figyeltem meg a nyugat-dunántúli propoliszok Na koncentrációjában a dél-alföldiekhez képest, valamint a Sr koncentrációjukban a közép-dunántúli mintákhoz viszonyítva.

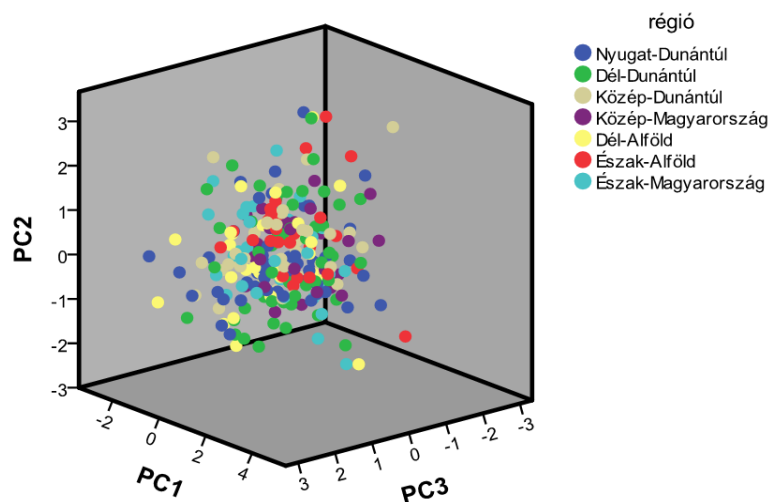


17. ábra: Magyarországi régiókból származó nyers propoliszok logaritmizált elemkoncentrációi közötti szignifikáns különbségek ($p < 0,05$) az ANOVA alapján

Az ANOVA egyszerre csak egy tényező összehasonlítását tudja elvégezni két csoport között. Ugyanakkor a mérési eredmények egy nagy adathalmaznak tekinthetők. A vizsgált 252 mintából az értékelt 26 elem összesen (252×26) 6652 db mérési adatot jelent a teljes halmazra vonatkozóan. Ezen mérési adatok értékelésére adatbányászati eljárást érdemes használni az ebben rejtőző összefüggések feltárására. A kemometriai módszerek nemcsak egy tényezőt képesek figyelembe venni az elkülönítés/csoportosítás során, hanem több független adatot is felhasználnak a csoportok létrehozásához, vagy az összefüggések feltárására. Két, az eredetazonosítás során gyakran alkalmazott kemometriai eljárást próbáltam ki, a főkomponens analízist (PCA) és a lineáris diszkriminancia analízist (LDA). Az elemtartalmi eredmények közül első körben a Cd,

Cr, Cu, Eu, La, Mo, Ni, U, V és Zn eredményeit nem vettem figyelembe a csoportosítás során, mivel nem normál eloszlásúak vagy kimutatási határ alatt volt a koncentrációjuk.

A független változók közötti összefüggés feltárására a PCA egy alkalmas eljárás, mely az n darab független változóból $\leq n$ darab főkomponenst generál, amelyek korrelálatlanok egymással. A főkomponensek számának meghatározására figyelembe vehető a sajátérték („Eigenvalue”) és a hegyomlás („Scree plot”) diagramon megfigyelhető törés vagy „könyök”. A hegyomlás diagram 2 főkomponenst indokolt volna, ami a teljes variancia 81,3%-át fejezné ki, de a főkomponensek sajátértékei alapján 3 főkomponenst (PC1, PC2, PC3) hagytam meg. A három főkomponens a teljes variancia 85,3%-át fejezte ki. A főkomponens analízis eredményét a 18. ábrán látható háromdimenziós pontdiagramon ábrázoltam, melyen az egyes minták régió szerinti földrajzi eredetét külön-külön színnel jelöltem. Az eredményekből nem figyelhető meg összefüggés a földrajzi eredettel kapcsolatban, az egyes régiókhoz tartozó pontok nem alkotnak külön csoportokat a diagramon, hanem más régiókkal keverednek. Emiatt a főkomponens analízis alkalmazását elvettem.



18. ábra: A nyers propolisz minták logaritmizált elemkoncentrációinak értékelése főkomponens analízissel (PCA) a minták földrajzi eredete alapján

A földrajzi régiók elkülönítésére a PCA helyett a lineáris diszkriminancia analízist alkalmaztam. Ez a módszer a PCA-hoz hasonlóan egy dimenziócsökkentési eljárás, viszont a dimenziók számának csökkentése mellett egyúttal a különböző osztályok közötti varianciát maximalizálja, miközben az egy adott osztályon belüli varianciát minimalizálja. A diszkriminancia analízis feltétele, hogy a független változóknak normál eloszlásúaknak kell lenniük. Azáltal, hogy a koncentrációkat logaritmizált skálán ábrázoltam, elértem azt, hogy ez a feltétel teljesüljön. További feltétele, hogy a csoportok kovariancia mátrixai azonosak legyenek, melyet a Box's M teszttel ellenőriztem. Ez

szignifikáns eredményre vezetett ($p < 0,05$), ami azt fejezi ki, hogy a kovariancia mátrixok különbözőek. Ugyanakkor az LDA robusztus módszernek tekinthető akkor is, ha ez a feltétel kevésbé teljesül (Kovács, 2014), ezért tovább folytattam az értékelést.

Az LDA elemzést lefuttatva megkaptam az egyes változók hozzájárulásának mértékét a csoportosításhoz. A hozzájárulás mértékét a Wilks' Lambda, illetve a szignifikancia értéke fejezi ki. A Wilks' Lambda minden elemnél viszonylag magas, 0,9 feletti, ami azt mutatja, hogy eszerint nincs jelentős hatása az egyes elemeknek az osztályozásra. Ezzel szemben a p értéke alapján a B, Ca, K, Mg, Na, P, Sr, Cs, Gd, Tb, Tm és a Lu hatása szignifikáns ($p < 0,05$) az osztályozásra. Az előző elemekkel ellentétben a Ba és a Co hozzájárulása nagyon alacsony ($p = 0,594$ és $0,475$), emiatt ezeket az elemeket szintén kivettem a csoportosításból. A továbbiakban tehát az Al, B, Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, S, Sr, Cs, Ce, Pr, Nd, Sm, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb és Lu elemeket használtam az osztályozás során, melyek csoportosításhoz való hozzájárulását a 15. táblázat mutatja.

15. táblázat: A nyers propoliszokban mért egyes elemek logaritmizált koncentrációinak hozzájárulása az LDA földrajzi eredet szerinti osztályozásához

	Wilks' Lambda	F	df1	df2	Sig.
lg Al	0,959	1,734	6	245	0,114
lg B	0,947	2,266	6	245	0,038
lg Ca	0,942	2,512	6	245	0,022
lg Fe	0,959	1,751	6	245	0,110
lg K	0,936	2,783	6	245	0,012
lg Mg	0,926	3,258	6	245	0,004
lg Mn	0,970	1,273	6	245	0,270
lg Na	0,922	3,451	6	245	0,003
lg P	0,949	2,209	6	245	0,043
lg S	0,965	1,461	6	245	0,192
lg Sr	0,928	3,172	6	245	0,005
lg Cs	0,932	2,972	6	245	0,008
lg Ce	0,962	1,606	6	245	0,146
lg Pr	0,967	1,410	6	245	0,211
lg Nd	0,962	1,625	6	245	0,141
lg Sm	0,957	1,841	6	245	0,092
lg Gd	0,921	3,500	6	245	0,002
lg Tb	0,917	3,692	6	245	0,002
lg Dy	0,958	1,775	6	245	0,105
lg Ho	0,956	1,858	6	245	0,089
lg Er	0,952	2,077	6	245	0,057
lg Tm	0,940	2,607	6	245	0,018
lg Yb	0,951	2,108	6	245	0,053
lg Lu	0,938	2,679	6	245	0,016

A diszkrimináló függvényeket megfigyelve azt tapasztalhatjuk, hogy 6 függvényt hozott létre a 7 függő változó (régiók) elkülönítésére (16. táblázat). A diszkriminancia függvények sajátértéke (Eigenvalue) írja le azok relatív fontosságát az osztályozásra. Ez az első függvény esetében a legnagyobb (1,680), ami a teljes varianciának a 39,8%-át fejezi ki. A sajátérték egyre csökken, míg a hatodik diszkrimináló függvény sajátértéke már csak 0,188. Szintén a diszkrimináló függvények fontosságát fejezi ki a Wilks' Lambda, illetve a p-érték, melyeket a 17. táblázat tartalmazza. Minél alacsonyabb a Wilks' Lambda értéke, annál fontosabb a diszkrimináló függvény. Az első függvény 0,052-es értékkel bír, a hatodik függvénynek ezzel szemben már 0,841 a Wilks' Lambda értéke. Ugyanakkor továbbra is szignifikáns hatással bír az elválasztásra az utolsó, hatodik függvény is.

16. táblázat: A lineáris diszkriminancia analízis során a diszkrimináló függvények sajátértéke (eigenvalues)

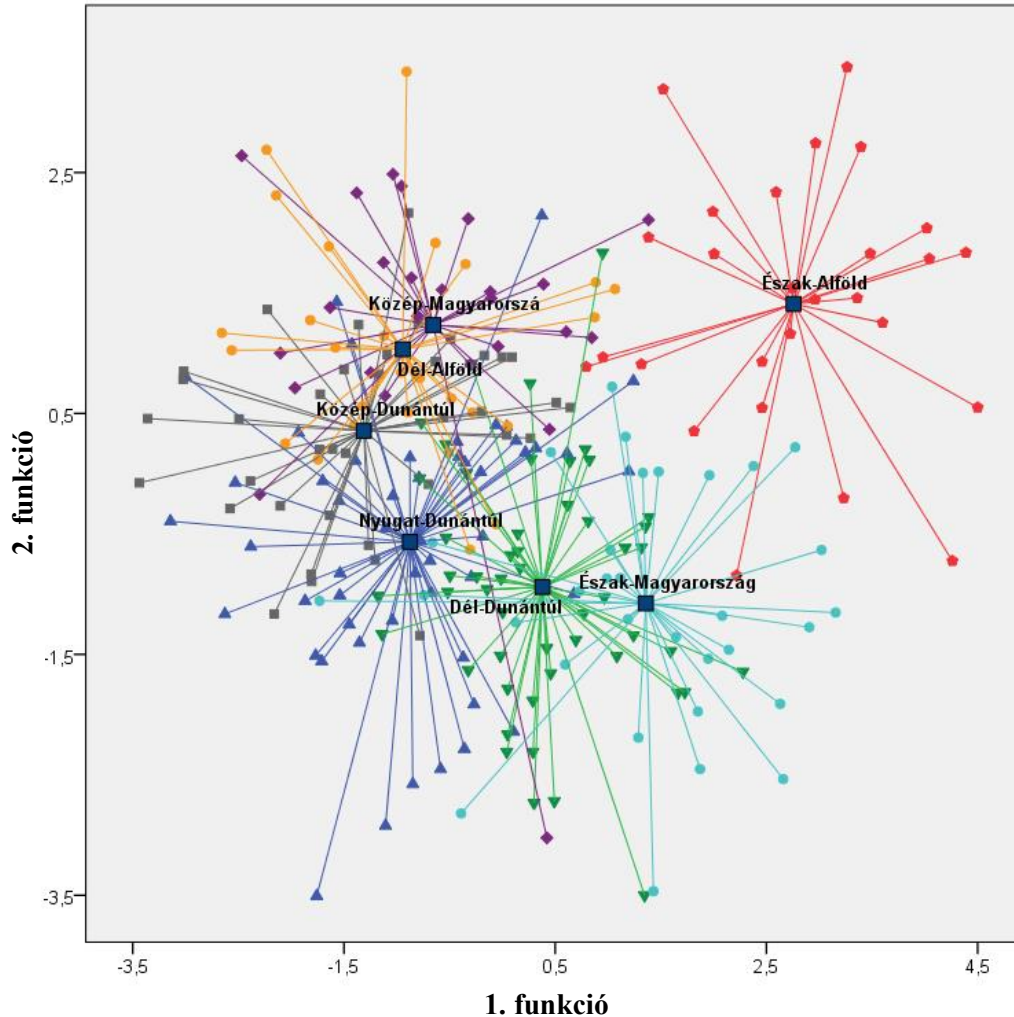
Funkció	Sajátérték	Variancia %	Összesített %	Kanonikus korreláció
1	1,680 ^a	39,8	39,8	0,792
2	0,918 ^a	21,7	61,5	0,692
3	0,806 ^a	19,1	80,5	0,668
4	0,380 ^a	9,0	89,5	0,525
5	0,254 ^a	6,0	95,5	0,450
6	0,188 ^a	4,5	100,0	0,398

17. táblázat: A lineáris diszkriminancia analízis során a diszkrimináló függvények Wilks' Lambda értéke és szignifikanciája

Funkciók tesztelése	Wilks' Lambda	Khi-négyzet	df	Szignifikancia
1 a 6-on keresztül	0,052	694,525	144	<0,0005
2 a 6-on keresztül	0,140	462,349	115	<0,0005
3 a 6-on keresztül	0,269	308,992	88	<0,0005
4 a 6-on keresztül	0,486	169,815	63	<0,0005
5 a 6-on keresztül	0,671	93,949	40	<0,0005
6	0,841	40,658	19	0,003

A megfigyelések értékeit, illetve a csoportok centroidjait ábrázolhatjuk „loading plot”-ként, amelyben vizuálisan megfigyelhető az osztályozás hatékonysága (19. ábra). Ebből az látszik, hogy a leghatékonyabban az észak-alföldi régióból származó propoliszok különülnek el a többi régiótól, csak részben mutatnak átfedést a többivel, főleg az észak-magyarországi régióból származó propoliszokkal. A többi régió propoliszait ugyanakkor nem lehetett teljes mértékben elkülöníteni egymástól. A dél-alföldi régióból származó

minták szinte teljesen átfedésben vannak a közép-magyarországi és a közép-dunántúli propoliszokkal egyaránt. Kissé távolabb esnek ezektől a nyugat-dunántúli propoliszok. A dél-dunántúliak és az észak-magyarországiak szintén részben átfedésben vannak egymással a loading plot-on.



19. ábra: A megfigyelések értéke (loading plot) a nyers propoliszok régiók szerinti csoportosítása során, lineáris diszkriminancia analízissel

A loading plot eredménye azért ellentmondásos, mert egymástól földrajzilag távolabb eső területek között figyelhető meg hasonlóság az elemösszetétel alapján, egymáshoz földrajzilag közelebb eső régiók pedig távolabb helyezkednek el a loading plot ábrázolása szerint. Például az Észak-Alföld és Dél-Alföld is alapvetően síkság, mégis megjelenik a különbség a propoliszok elemösszetételében. Viszonylag nagy a földrajzi távolság a dél-dunántúli és az észak-magyarországi régió között, az LDA mégsem mutat közöttük jelentős különbséget. A klasszifikációs táblázat tartalmazza a csoportosítás számszerű eredményét, melyet a 18. táblázat szemléltet. A táblázatot két részre oszthatjuk: az első része az eredeti osztályozást, a második része a keresztvalidálást tartalmazza.

18. táblázat: Az osztályozás eredménye a nyers propoliszok régiók szerinti csoportosítása során, lineáris diszkriminancia analízissel^{a,c}

	regió	Megjósolt csoporttagság							Összesen
		Nyugat-Dunántúl	Dél-Dunántúl	Közép-Dunántúl	Közép-Magyarország	Dél-Alföld	Észak-Alföld	Észak-Magyarország	
Eredeti osztályozás	Darabszám								
	Nyugat-Dunántúl	33	3	8	2	2	1	2	51
	Dél-Dunántúl	3	39	1	2	4	0	2	51
	Közép-Dunántúl	2	2	26	4	3	0	1	38
	Közép-Magyarország	0	0	3	20	0	0	2	25
	Dél-Alföld	2	1	2	1	21	1	0	28
	Észak-Alföld	0	0	0	0	0	26	1	27
	Észak-Magyarország	0	4	2	1	0	0	25	32
	%								
	Nyugat-Dunántúl	64,7	5,9	15,7	3,9	3,9	2,0	3,9	100,0
	Dél-Dunántúl	5,9	76,5	2,0	3,9	7,8	0,0	3,9	100,0
	Közép-Dunántúl	5,3	5,3	68,4	10,5	7,9	0,0	2,6	100,0
	Közép-Magyarország	0,0	0,0	12,0	80,0	0,0	0,0	8,0	100,0
	Dél-Alföld	7,1	3,6	7,1	3,6	75,0	3,6	0,0	100,0
Észak-Alföld	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	96,3	3,7	100,0	
Észak-Magyarország	0,0	12,5	6,3	3,1	0,0	0,0	78,1	100,0	
Keresztvalidálás ^b	Darabszám								
	Nyugat-Dunántúl	24	3	12	2	4	2	4	51
	Dél-Dunántúl	4	35	2	3	5	0	2	51
	Közép-Dunántúl	5	4	17	5	6	0	1	38
	Közép-Magyarország	2	0	3	18	0	0	2	25
	Dél-Alföld	4	1	3	1	18	1	0	28
	Észak-Alföld	2	0	0	1	1	20	3	27
	Észak-Magyarország	1	5	2	1	0	3	20	32
	%								
	Nyugat-Dunántúl	47,1	5,9	23,5	3,9	7,8	3,9	7,8	100,0
	Dél-Dunántúl	7,8	68,6	3,9	5,9	9,8	0,0	3,9	100,0
	Közép-Dunántúl	13,2	10,5	44,7	13,2	15,8	0,0	2,6	100,0
	Közép-Magyarország	8,0	0,0	12,0	72,0	0,0	0,0	8,0	100,0
	Dél-Alföld	14,3	3,6	10,7	3,6	64,3	3,6	0,0	100,0
Észak-Alföld	7,4	0,0	0,0	3,7	3,7	74,1	11,1	100,0	
Észak-Magyarország	3,1	15,6	6,3	3,1	0,0	9,4	62,5	100,0	

a. Az eredeti osztályozás alapján az esetek 75,4%-a helyesen osztályozva.

b. A keresztvalidálás csak az elemzésben részt vevő esetekre elvégezve. A keresztvalidálás során minden egyes esetet az összes funkció alapján létrehozott funkció osztályozza.

c. A keresztvalidálás alapján az esetek 60,3%-a helyesen osztályozva.

Az eredeti („Original”) osztályozás szerinti csoportosításban azt figyelhetjük meg, hogy az észak-alföldi régió mintáinak csoportosítása volt a leghatékonyabb, hiszen az ebből a régióból származó propoliszok 96,3%-át valóban a megfelelő csoportba („Predicted Group Membership”) osztotta be a modell. Emellett ez a csoport kevés hibás, nem az adott csoportba tartozó elemet tartalmaz. Mindössze egy-egy dél-alföldi és nyugat-dunántúli régióból származó propoliszt osztott be hibásan az észak-alföldi régióból származó minták közé. Továbbá egy észak-alföldi régióból származó minta hibásan észak-magyarországiaként került besorolásra.

A többi csoportba tartozó minta osztályozása már nem ilyen mértékben hatékony. A második legnagyobb mértékű egyezést a közép-magyarországi minták esetében tapasztaltam. Az ide tartozó mintákat a csoportosítási modell 80,0%-ban helyesen osztotta be a közép-magyarországiakhoz, de 10 olyan mintát is ide sorolt, ami valójában nem innen származott. Az észak-magyarországi mintákat 78,1%-ban helyesen osztotta be a megfelelő kategóriába. Ezek közül a legtöbb elem a dél-dunántúli csoportba került hibásan, ugyanakkor 8 nem innen származó mintát is besorolt ebbe a régióba. A többi régióba tartozó propolisz csoportosításának hatékonysága 64,7 és 76,5% közötti.

Az osztályozás ellenőrzésére használható a keresztvalidálás („Cross-validation”), mely a 18. táblázat második részében látható. Ez az eredeti csoportosítási modell felhasználásával, az eredeti csoportosításhoz hasonlóan végzett osztályozás, melyet többször ismételt a szoftver, de minden ismételt osztályozásnál egy-egy mintát ismeretlennek vesz, és megjósolja azok valamely csoportba tartozását. Ez a legtöbb esetben rosszabb eredményre vezet, mint az eredeti osztályozási módszer (Sajtos, 2007b). Az észak-alföldi régióhoz tartozó minták helyes osztályba sorolása a keresztvalidálás során 74,1%-ra csökkent, ami még mindig viszonylag magas, emellett továbbra sem sorol hibásan ebbe a csoportba nagy arányban más régiókhoz tartozó mintákat. A második legmagasabb csoportosítási hatékonysággal a közép-magyarországi régió rendelkezett a keresztvalidálás során. Az eredeti csoportosítás szerint 20 helyesen kategorizált mintából ez esetben 18 mintát sorolt ehhez a régióhoz a 25 innen származó nyers propoliszból. A többi kategóriában a helyes találatok aránya alacsonyabb, 44,7% és 68,6% közötti.

Ismételten lefuttattam a lineáris diszkriminancia analízist ugyanezen elemek nem logaritmizált koncentráció értékeivel is. Az analízis eredményeként azt tapasztaltam, hogy ugyancsak az észak-alföldi régió mintáit tudta a modell a leghatékonyabban elkülöníteni a többi régióból származó propoliszoktól. Viszont mind az észak-alföldi régió, mind a többi földrajzi régió mintáinak az osztályozása rosszabb volt,

összehasonlítva a logaritmizált eredmények felhasználásával végzett analízis eredményével. A koncentráció eredmények normalizálása tehát javította a propolisz minták osztályozásának hatékonyságát.

Összességében a logaritmizált koncentrációk felhasználásával végzett LDA az eredeti osztályozási módszer alapján a minták 75,4%-át tudta megfelelően osztályozni, a keresztvalidálás alapján ez az arány 60,3%-ra csökkent. Ha véletlenszerűen szeretnénk a mintákat a régiókba sorolni, akkor 14,3% valószínűséggel találunk el a helyes eredetét a mintáknak. Ezzel szemben a modell lényegesen jobb hatékonysággal bír az eredetazonosítás tekintetében. Ugyanakkor teljes mértékű elkülönítést egyik régió esetében sem tudtam elérni az elemtartalmi eredmények alapján. Leghatékonyabban az Észak-Alföldről származó minták csoportba sorolása végezhető el.

A nem teljesen hatékony csoportosítás valószínűleg azzal magyarázható, hogy kis földrajzi különbségek vannak az egyes régiók között, illetve a klimatikus és botanikai viszonyok nem különböznek akkora mértékben az országon belül, hogy ez egyértelműen megmutatkozzon a nyers propoliszok elemösszetételében. Cantarelli et al. (2011), illetve Gong et al. (2012) szintén elemtartalmi összetétel alapján végezték a propoliszok földrajzi eredetének azonosítását argentin és kínai mintákon. Ezekben a kutatásokban az eltérő osztályokként megjelölt régiók akár Magyarország területének többszörösét is jelentették, így nagyobb esély volt rá, hogy különbséget mutassanak ki az összetételükben, jobb hatékonyságot érjenek el.

Ugyanakkor az általam létrehozott modell tovább javítható a későbbiekben pl. a flavonoid összetétel vizsgálatával (Saftić et al., 2019). Az elemösszetétel kombinálható lehet bizonyos elemek izotóparányának különbségével is, mely a földrajzi területtel, vagy a forrásául szolgáló növényvel lehet összefüggésben. Ezek lehetnek könnyű (pl. δD , $\delta^{13}C$) (Pilgrim et al., 2010), vagy nehéz elemek izotóparányai (pl. $^{87}Sr/^{86}Sr$) (Bong et al., 2012) egyaránt.

5.3. A tinktúrakészítés hatása a propolisz tinktúrák összetételére

A propolisz tinktúrák vizsgálata kapcsán szerettem volna azt meghatározni, hogy a tinktúra összetételét milyen módon befolyásolják az elkészítése során alkalmazott körülmények, elsősorban a végtermék elemtartalma vonatkozásában. A tinktúra készítése a különböző extrahálószerrel egy frakcionálásnak tekinthető. A frakcionálás során a vizsgálandó komponenst, vagy a komponensek egy csoportját osztályozzuk a mintából annak valamilyen fizikai (pl. méret, oldhatóság) vagy kémiai (pl. kötés, reaktivitás)

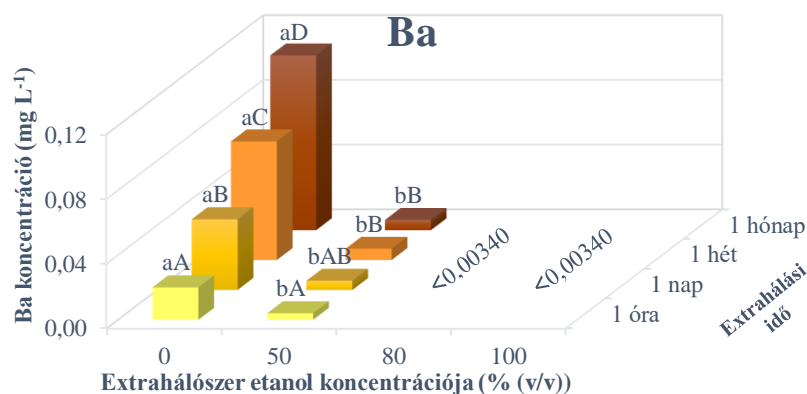
tulajdonsága alapján (Szpunar és Lobinski, 2003). Ebben az esetben az oldhatóság alapján történt a frakcionálás az oldószer etanol koncentrációja függvényében.

A vizsgálatok során meghatároztam az egyes elemek koncentrációjának alakulását a tinktúrában az extrakciós idő (1 óra, 1 nap, 1 hét és 1 hónap), a kivonó közeg minőségének (100:0, 50:50, 20:80 és 0:100 víz:etanol elegy), valamint térfogatának (2,5 mL, 5,0 mL és 10 mL) függvényében egyaránt.

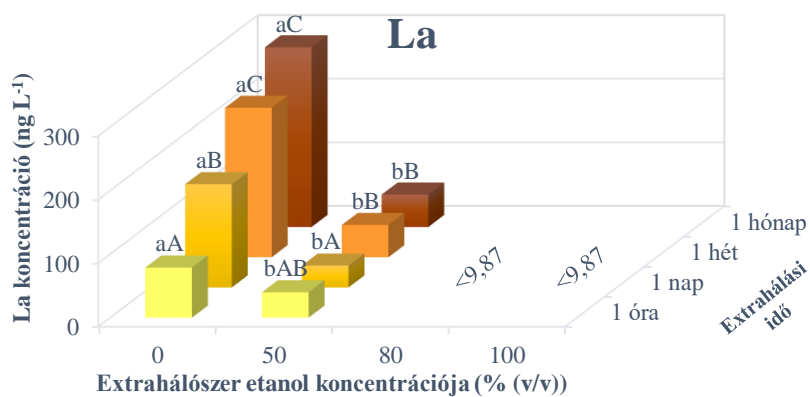
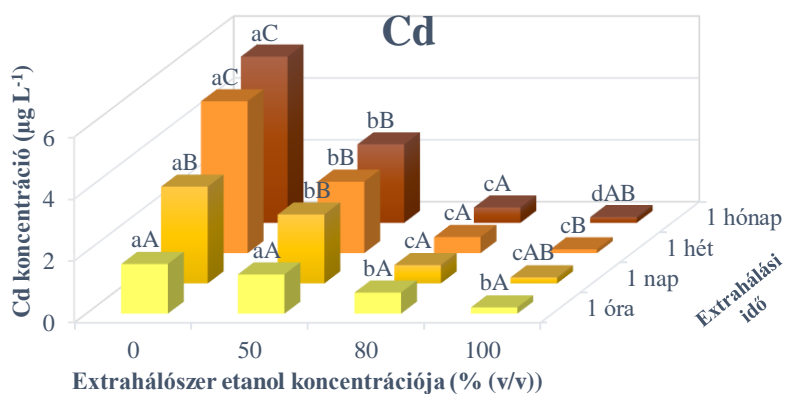
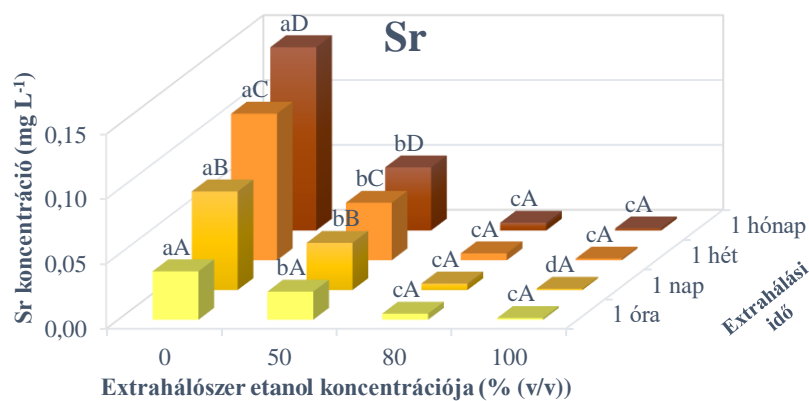
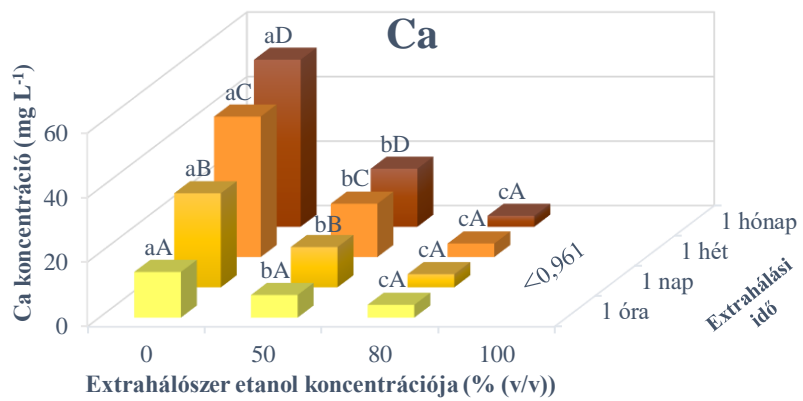
5.3.1. Az elemkoncentrációk változása az idő és a kivonó közeg összetétele függvényében

A különböző összetételű extrahálóközegben, valamint az extrakciós idő függvényében a kinyerhetőségük alapján a hasonlóan viselkedő elemeket 3 nagy csoportba (i, ii, iii) tudtam sorolni (Soós et al., 2019).

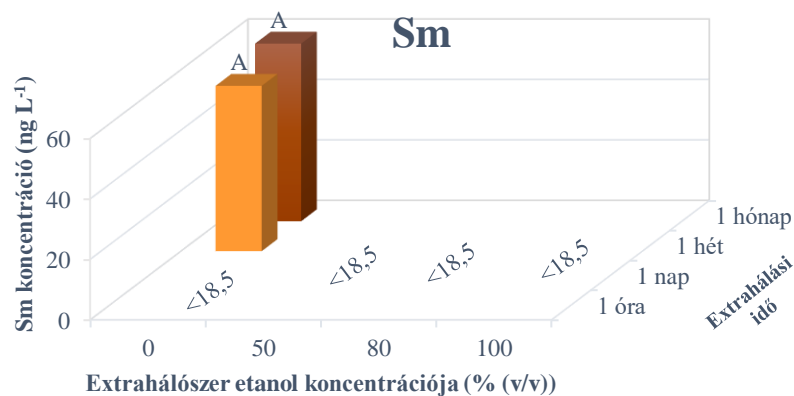
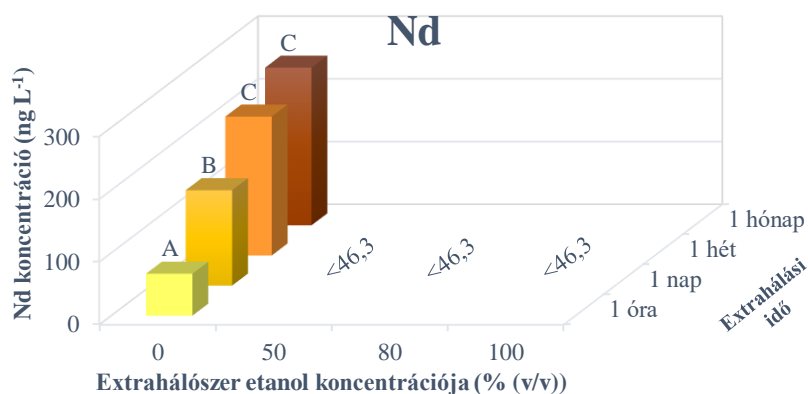
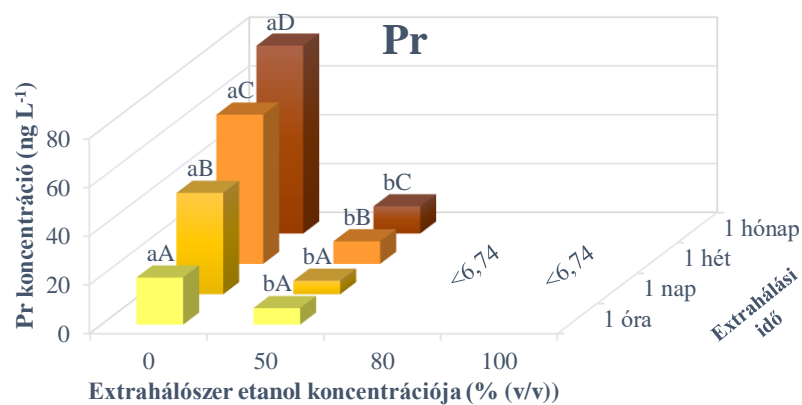
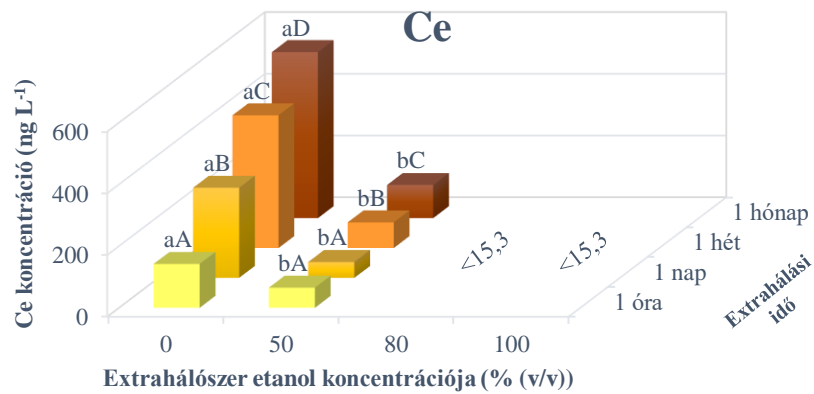
(i) Azt tapasztaltam, hogy az elemek többsége a vizes közegben drasztikusan nagyobb mértékben oldódott ki, mint az etanolt tartalmazó kivonószerekben. Ez azt takarja, hogy az 1 hónapos extrahálást követően a vizes és 50% (v/v)-os etanollal készült kivonat között legalább 50–90%-kal alacsonyabb értéket mértem az ide sorolt elemek koncentrációjában. Az 50 és a 80% (v/v)-os etanol koncentrációjú kivonat között további, több mint 80%-os eltérést figyeltem meg, amennyiben ezt meg lehetett határozni, és nem került az elem koncentrációja kimutatási határ alá. Az (i) csoportba sorolt elemek koncentrációjának függését a 20. ábrán szemléltetem, az extrahálási idő és az extrahálószer etanol koncentrációjának függvényében.



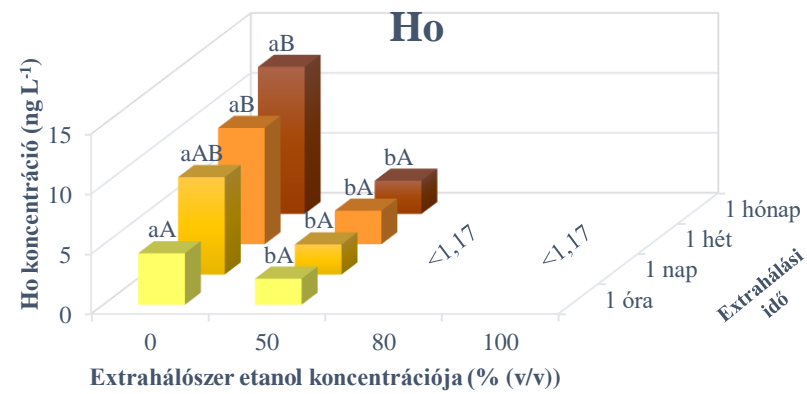
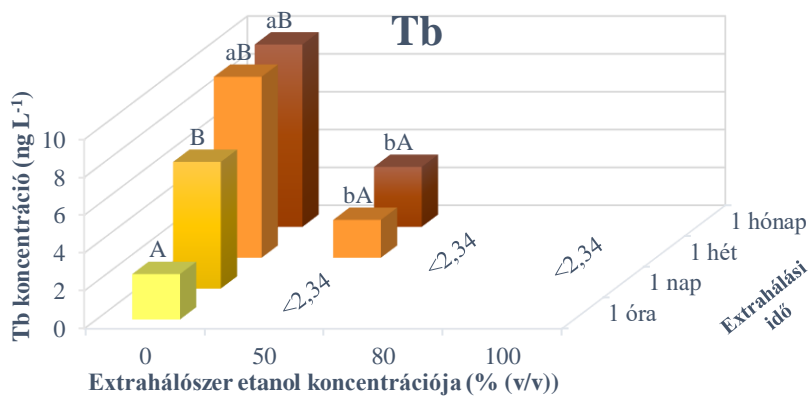
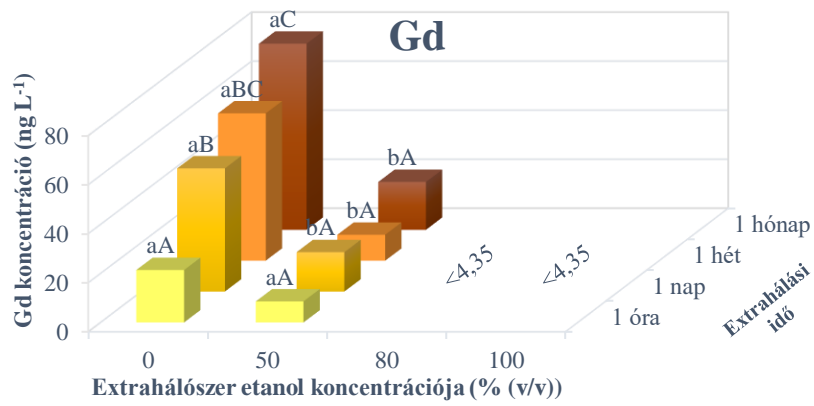
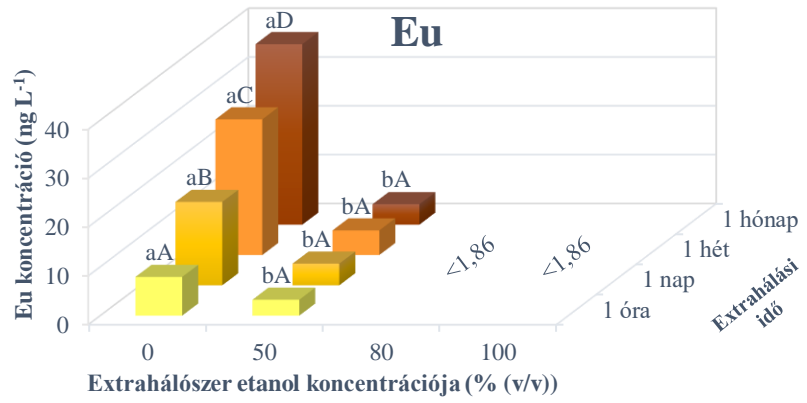
20. ábra: A tinktúrákban mért Ba, Ca, Sr, Cd, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Ho, Er, Tb és Yb koncentráció az extrahálási idő és a kivonóközeg etanol koncentrációjának függvényében. Az eltérő kisbetűk az eltérő kivonószerekkel készült oldatok közötti szignifikáns különbséget ($p < 0,05$) mutatják. Az eltérő nagybetűk a szignifikáns eltérést ($p < 0,05$) jelzik az extrahálási idő függvényében.



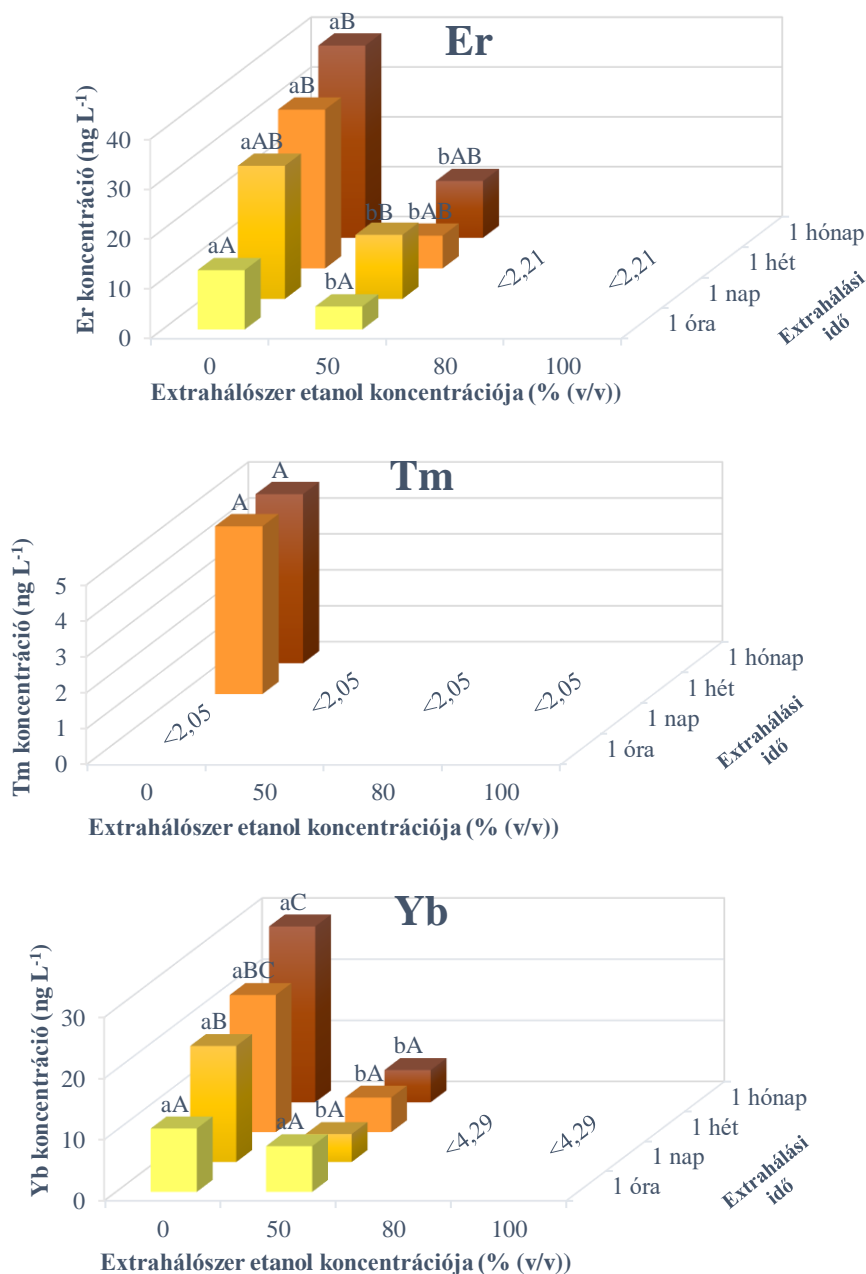
20. ábra: Folytatás.



20. ábra: Folytatás.



20. ábra: Folytatás.



20. ábra: Folytatás.

Az (i) csoportba tartozó elemek közül csak a Sr és a Cd voltak azok, melyek minden tinktúrában mérhető koncentrációban voltak jelen. Sok esetben viszont a kivonószerek etanol koncentrációjának növelésével az ebbe a csoportba tartozó elemek koncentrációi kimutatási határ alá kerültek a tinktúrákban. A 100% (v/v)-os etanollal készült kivonatok egyikében sem volt mérhető a Ca. Ugyancsak kimutatási határ alatti koncentrációban volt jelen a 80 és 100% (v/v)-os etanollal készült tinktúrákban a Ba, La, Ce, Pr, Eu, Gd, Dy, Ho, Er, Yb, míg az 50, 80 és 100% (v/v)-os etanollal készült tinktúrában a Nd volt kimutatási határ alatti koncentrációban. A Sm és a Tm az 1 hetes és 1 hónapos extrahálást követően a 0% (v/v)-os etanoltartalmú, azaz a vizes kivonatban volt mérhető

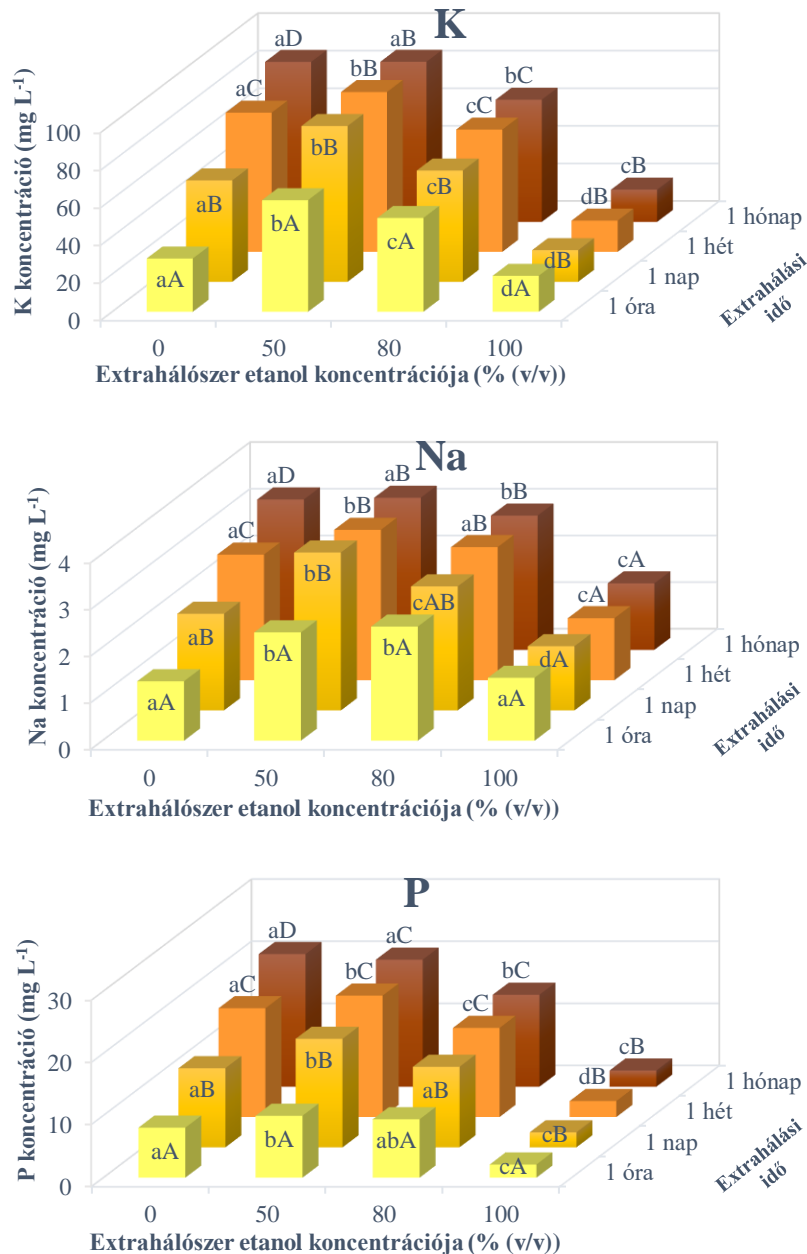
koncentrációban. A Tb koncentrációját a vizes kivonatokban, illetve az 1 hetes és 1 hónapos extrahálással készült 50% (v/v)-os etanol koncentrációjú kivonatokban lehetett meghatározni. A Lu koncentrációja minden tinktúra esetében a kimutatási határ alatt volt, de mivel a vizsgált ritkaföldfémek (lantanoidák) mindegyike ebbe a csoportba sorolható, ez az elem is valószínűleg ugyanilyen oldhatósággal rendelkezik.

A fenti indokok figyelembe vételével az (i) csoportba soroltam a Ba, Ca, Sr, Cd, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb és a Lu elemeket. A Ca, Sr és a Ba is az alkáliföldfémek közé tartozik, ami magyarázat lehet a hasonló viselkedésükre. Viszont annak ellenére, hogy a Mg is alkáliföldfém, nem az (i) csoportba sorolható. A további ide tartozó elemek a Cd kivételével a lantanoidák csoportjába tartoznak.

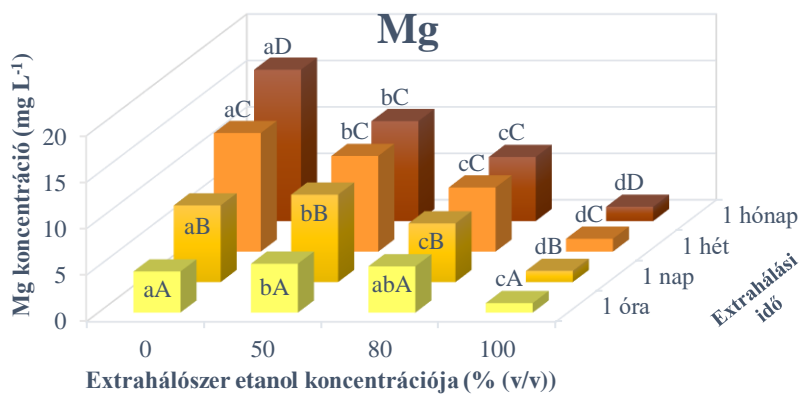
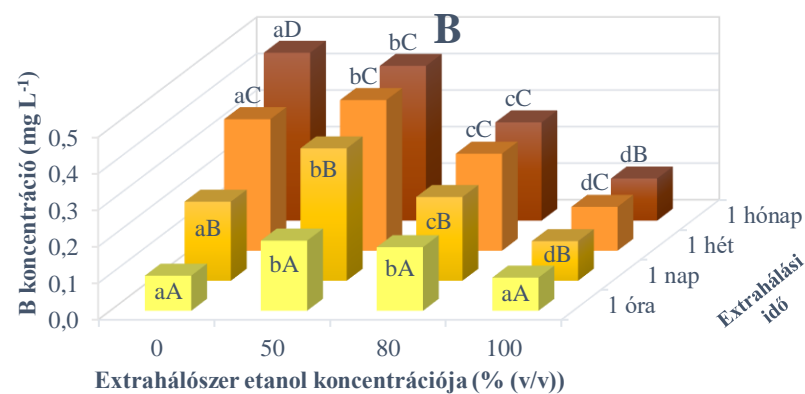
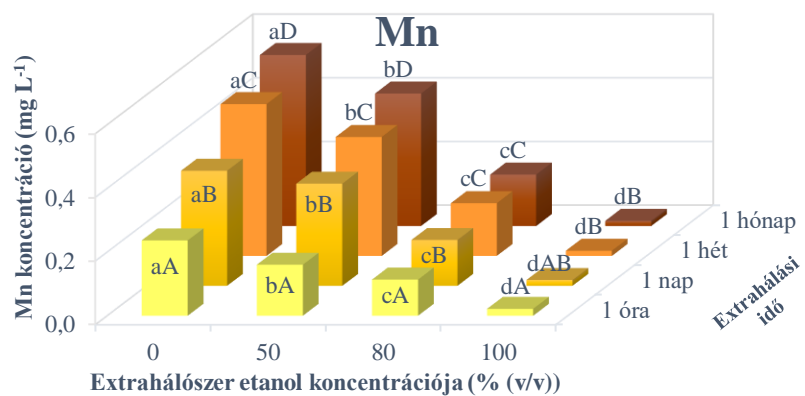
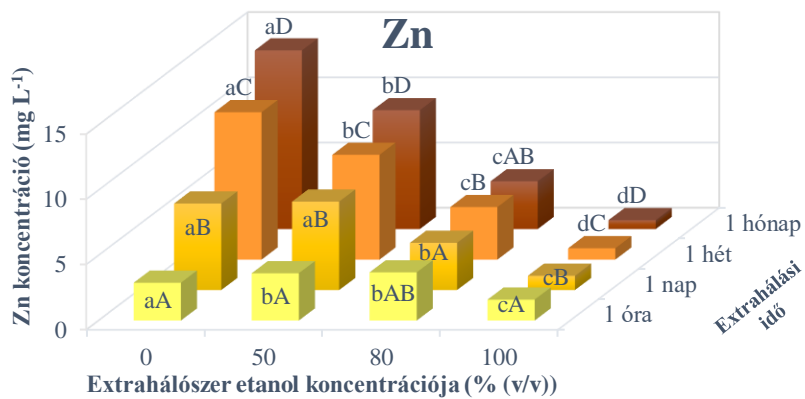
(ii) Vannak olyan elemek, melyek 1 hónapot követően szintén a vizes kivonatban voltak jelen a legmagasabb koncentrációban, emellett a kivonószer etanol koncentrációjának növelésével általában alacsonyabb volt a koncentrációjuk a tinktúrában, viszont ez nem volt olyan nagymértékű vagy tendenciális, mint az (i) csoport esetében. A Na, K és P esetében szignifikáns különbség sem volt kimutatható 1 hónapos extrahálás után a 0 és 50% (v/v)-os etanollal készült kivonatok között. A (ii) csoport elemeinek további jellemzője az (i) csoporthoz hasonlóan, hogy a vizes kivonatokban az idő függvényében szignifikánsan nőtt minden elem koncentrációja. Ezzel szemben az etanolt is tartalmazó kivonó közegben ez nem minden esetben teljesült. Szignifikánsan nőtt az idő függvényében a koncentrációja a Mg, P, S és Co elemeknek. A B koncentrációja kezdetben szintén növekedett, de 1 hónap után enyhén csökkent. Nem tapasztaltam változást a Na és a Cs koncentrációjában az idő függvényében a 100% (v/v)-os etanollal készült kivonatokban. Ugyanakkor kismértékű, de szignifikáns csökkenést tapasztaltam a K és a Mn elemeknél, míg a Zn esetében szintén szignifikáns, de jelentős mértékű csökkenés volt kimutatható az idő függvényében a 100% (v/v)-os etanollal készült tinktúrákban.

A legrövidebb idejű, 1 órás áztatással készült oldatokat vizsgálva szinte minden elemnél azt tapasztaltam, hogy nem a vizes vagy a 100% (v/v)-os etanollal készült kivonatokban, hanem az 50 vagy a 80% (v/v)-os etanollal készült extraktumokban volt jelen az elem szignifikánsan magasabb koncentrációban. A Mn kivételt jelent, mivel az 1 órás áztatással készült kivonatok esetében is szignifikánsan alacsonyabb volt az elem koncentrációja az etanol koncentráció növekedésével, tehát a víz oldotta ki a Mn tartalmat a legnagyobb mértékben 1 óra után.

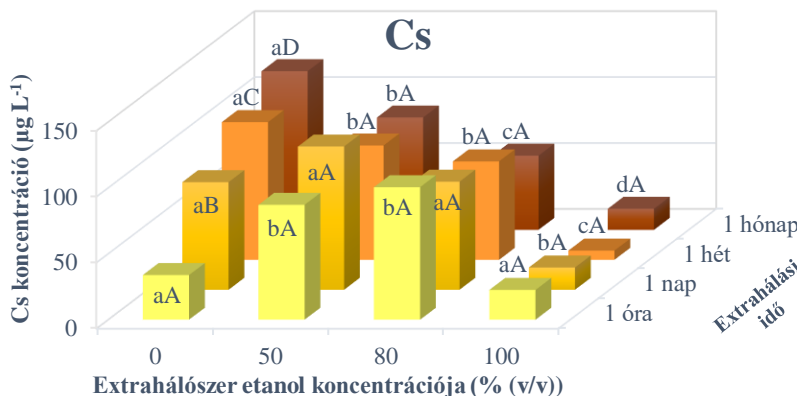
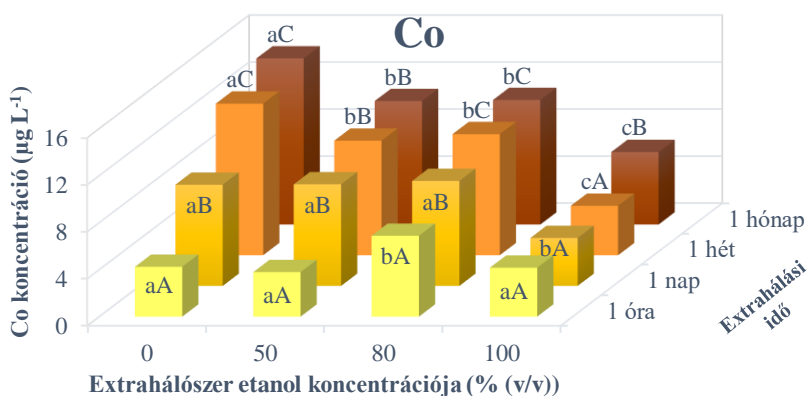
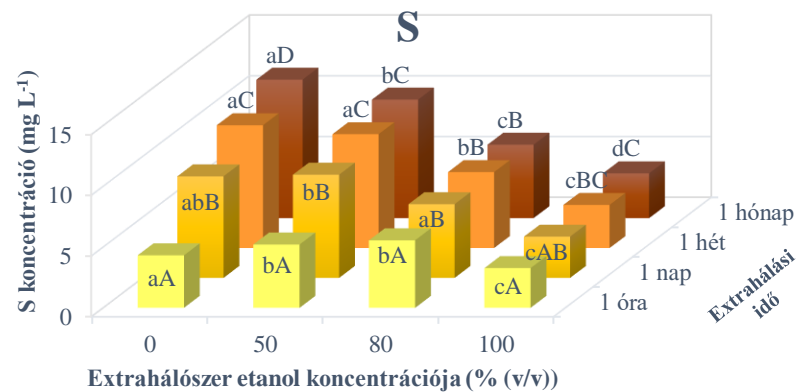
A (ii) csoportba tehát a B, K, Mg, Na, P, S, Zn, Mn, Co és a Cs elemeket soroltam, melyek a Cs kivételével az emberi szervezet számára létfontosságú élettani hatással rendelkező elemek (Pais, 1999). A 21. ábrán ezen elemek koncentrációját tüntettem fel az extrahálási idő és az extrahálószer etanol koncentrációjának függvényében a különböző tinktúrákban.



21. ábra: A tinktúrákban mért K, Na, P, Zn, Mn, B, Mg, S, Co és Cs koncentráció az extrahálási idő és a kivonóközeg etanol koncentrációjának függvényében. Az eltérő kisbetűk az eltérő kivonószerrel készült oldatok közötti szignifikáns különbséget ($p < 0,05$) mutatják. Az eltérő nagybetűk a szignifikáns eltérést ($p < 0,05$) jelzik az extrahálási idő függvényében.



21. ábra: Folytatás.

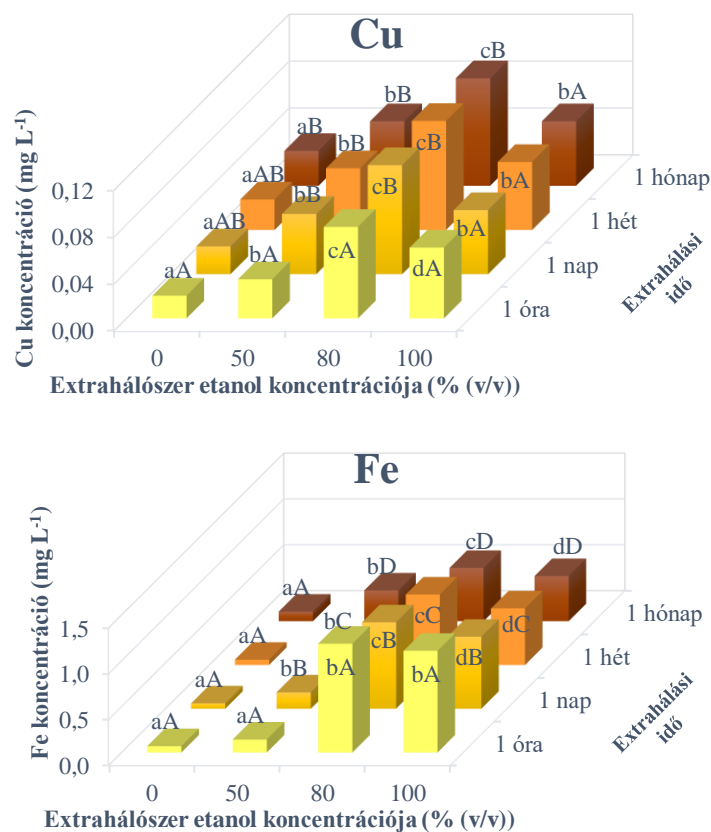


21. ábra: Folytatás.

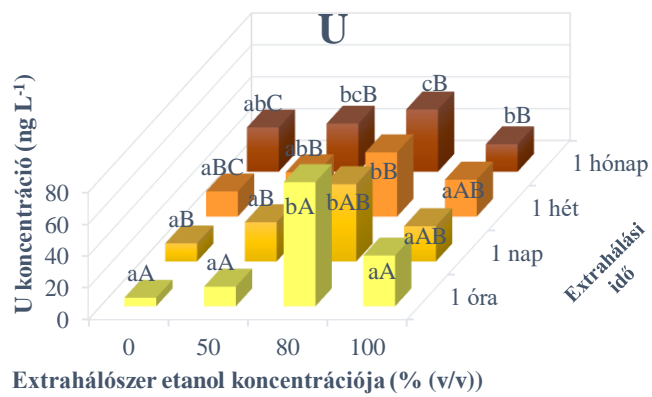
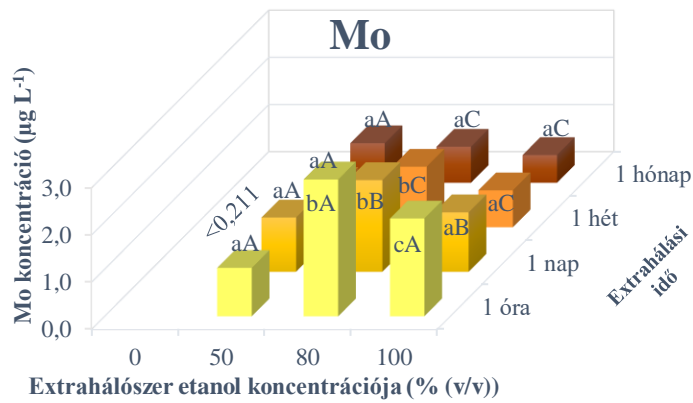
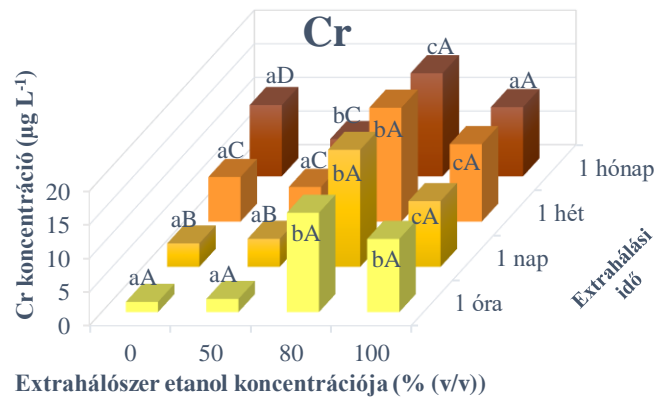
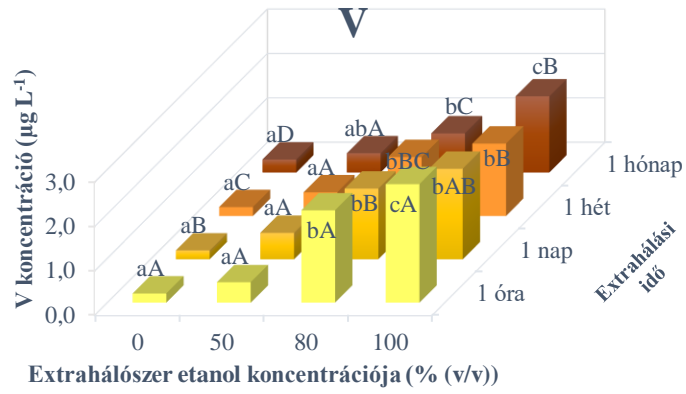
(iii) Az ebbe a csoportba sorolt elemeket mindössze az köti össze, hogy a vizes extraháló közegben rosszabb volt az oldódásuk, mint az etanoltartalmú kivonószerekben, ezen felül többségében különböző tulajdonságokkal rendelkeznek. Ide sorolható a Cu, Fe, V, Cr, Mo és az U, melyek tinktúrabeli koncentrációját a 22. ábrán tüntettem fel az extrahálási idő és az extrahálószer etanol koncentrációjának függvényében.

Annak ellenére, hogy a vizes közegbe oldódtak ki a legrosszabbul az elemek, nem minden esetben volt egyenes arányban magasabb a kioldódásuk az etanol koncentrációjának növelésével. A Cu esetében a legmagasabb mértékű kioldódás a 80% (v/v)-os etanolban volt bármely extrakciós időt figyelembe véve. Továbbá a 100% (v/v)-

os etanollal készült extraktumokban alacsonyabb volt a Cu koncentrációja a 80% (v/v)-os etanol koncentrációjú tinktúrákhoz viszonyítva. A Cr is nagyon hasonlóan viselkedett annyi különbséggel, hogy a vizes kivonatban szignifikánsan nőtt a koncentrációja az idő függvényében. A Mo koncentrációja kimutatási határ alatt volt a vizes kivonatokban, de az 1 hónapos áztatási idő kivételével ugyancsak a 80% (v/v)-os etanollal készült kivonatban volt jelen a legmagasabb koncentrációban. A leghosszabb extrahálási idő mellett nem tudtam szignifikáns különbséget kimutatni a Mo koncentrációjában az 50, 80 és 100% (v/v)-os etanol koncentrációjú tinktúrák között. A V koncentrációjában tendenciálisan magasabb értékeket mértem az etanol koncentrációjának növekedésével, ugyanakkor a különbség nem minden esetben volt szignifikáns a különböző kezeléssel készült tinktúrák V koncentrációja között.

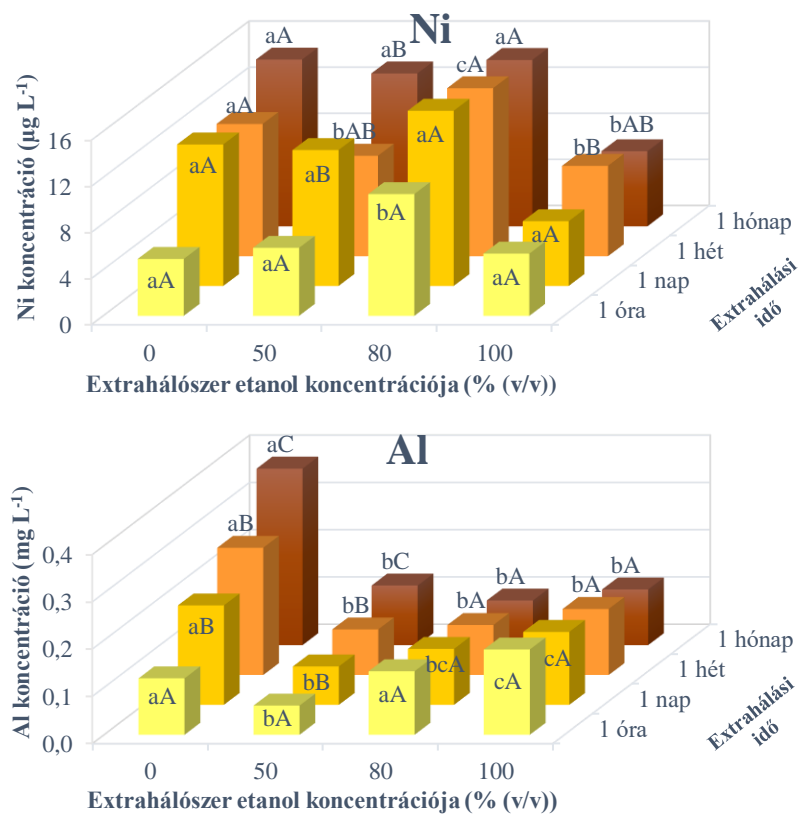


22. ábra: A tinktúrákban a Cu, Fe, V, Cr, Mo és az U koncentrációja az extrahálási idő és a kivonóközeg etanol koncentrációjának függvényében. Az eltérő kisbetűk az eltérő kivonószerrel készült oldatok közötti szignifikáns különbséget ($p < 0,05$) mutatják. Az eltérő nagybetűk a szignifikáns eltérést ($p < 0,05$) jelzik az extrahálási idő függvényében.



22. ábra: Folytatás.

A nikkelt nem tudtam egyértelműen besorolni az említett csoportokba, ami valószínűleg annak köszönhető, hogy koncentrációja a meghatározási határ (LOQ) körül volt mérhető. A legkisebb mértékű oldódása a 100% (v/v)-os etanollal készült tinktúrában volt, míg a vizes, az 50 és 80% (v/v)-os etanoltartalmú kivonatban közel hasonló értéket mutatott. Ezek alapján a (ii) csoportra jellemző tulajdonságokhoz áll a legközelebb. Az Al sokban hasonlít az (i) csoport tulajdonságaira, mert az 50% (v/v)-os etanollal készült tinktúrában is drasztikusan, 66%-kal alacsonyabb volt az Al koncentrációja a vizes kivonatokhoz képest. Ugyanakkor az 1 hetes és 1 hónapos extrahálási idő esetében sem tapasztaltam szignifikáns különbséget az 50, 80 és 100% (v/v)-os etanollal készült kivonatok között. Tehát nem tapasztaltam minimum 80%-kal alacsonyabb mértékű kioldódást az 50 és 80% (v/v)-os etanoltartalmú tinktúrák között, amit az (i) csoportba sorolt elemek mindegyikénél megfigyeltem. Az Al és a Ni elemek koncentrációját az extrahálási idő és az extrahálószer etanol koncentrációjának függvényében a 23. ábrán szemléltetem.



23. ábra: A tinktúrákban mért Al és Ni koncentrációk az extrahálási idő és a kivonóközeg etanol koncentrációjának függvényében. Az eltérő kisbetűk az eltérő kivonószerezellel készült oldatok közötti szignifikáns különbséget ($p < 0,05$) mutatják. Az eltérő nagybetűk a szignifikáns eltérést ($p < 0,05$) jelzik az extrahálási idő függvényében

5.3.2. Az elemtartalom változása az extrakciós idő függvényében

Az extrahálási idő függvényében a vizes kivonatokban a legtöbb elemnél növekvő tendenciát figyeltem meg, kivéve a (iii) csoportba sorolt elemeknél. A (iii) csoporton belül két elemnél nem volt megfigyelhető szignifikáns különbség (Fe, Mo), vagyis stagnált a koncentrációjuk. Ezzel szemben két esetben kismértékű, de szignifikáns (Cu, V), két esetben pedig szintén szignifikáns, ugyanakkor jelentős növekedést (Cr, U) tapasztaltam a vizes kivonatokban mért koncentrációk tekintetében.

Az (i) csoportba tartozó elemek esetében azt tapasztaltam, hogy a vizes kivonatok között az elemek koncentrációja jelentősen emelkedett az extrahálási idő függvényében. Ez a növekedés az 1 órás és az 1 hónapos extrakcióval készült kivonatok összehasonlítása az (i) csoporton belül 2,78–5,40-szeres, míg a (ii) csoport elemkoncentrációinak növekedése 2,27–4,49-szeres. Ez alapján jelentős különbség van a legrövidebb és a leghosszabb extrakciós idő mellett elérhető elemkoncentrációk között. Ugyanakkor az 1 hetes és az 1 hónapos extrahálással készült extraktum között a koncentráció növekedés mindössze 1,01–1,28-szoros az (i) csoport, illetve csak 1,10–1,28-szoros a (ii) csoport elemei tekintetében.

Különösen az etanoltartalmú kivonások esetében a növekedés mértékét jellemző százalékos változás gyakran félrevezető lehet. A kis koncentrációjú elemek koncentrációjának növekedése vagy csökkenése ugyanis a legtöbb esetben nem szignifikáns. Például néhány lantanoida, mégpedig az Eu, Gd, Ho és az Yb koncentrációjának változása nem szignifikáns az extrahálási idő előrehaladtával az 50% (v/v)-os etanoltartalmú kivonatban. Ráadásul a Nd, Sm, Tb, Tm és a Lu koncentrációjának változását nem is tudtam meghatározni, mivel vagy kimutatási határ alatt voltak, vagy nem volt megfigyelhető tendencia a koncentrációjuk változásában. Az (i) csoport többi elemének a koncentrációja 1,28–2,57, illetve 0,90–1,73-szorosára változott 1 óra és 1 hónap, illetve 1 hét és 1 hónap között az 50% (v/v)-os etanoltartalmú tinktúrákban. A magasabb etanoltartalmú kezegekben a változás mértékét nem tudtam meghatározni, mert kimutatási határ alatt voltak az elemkoncentrációk, vagy a Ca, Sr és a Cd esetében az extrakciós idő függvényében nem volt szignifikáns különbség köztük.

A (ii) csoportba sorolt elemek koncentrációja a Zn kivételével nőtt az etanoltartalmú tinktúrákban az idő függvényében. A növekedés mértéke 1,41–2,78 és 1,00–1,11-szoros az 50% (v/v)-os, 1,09–1,58 és 0,97–1,03-szoros a 80% (v/v)-os, míg 0,75–1,52 és 0,96–1,47-szoros a 100% (v/v)-os etanoltartalmú kivonatokban, 1 óra és 1 hét, valamint, 1 hét és 1 hónap extrakciós idő között. Ugyanakkor az említett elemeknél megfigyelhető, hogy

a növekedés nem szignifikáns 1 hét, vagy akár 1 nap extrakciós idő után sem az 50 és 80% (v/v)-os etanoltartalmú kivonatokban. Összességében elmondható, hogy a kivonószer ez esetben kioldotta szinte az összes hozzáférhető elemet a nyers propoliszokból ezen idő alatt. Így az 50 és 80% (v/v)-os etanoltartalmú kivonatokban nem várható ezen elemek koncentrációjának változása 1 hét után. A Zn koncentrációja szignifikáns csökkenést mutatott a 100% (v/v)-os etanol koncentrációjú kivonatokban az idő függvényében, de nem mutatott tendenciális változást a 80% (v/v)-os etanol koncentrációjú tinktúrákban, és enyhén, mindössze 13%-kal nőtt a koncentrációja az 50% (v/v)-os etanol koncentrációjú kivonatban 1 hét után.

Azt is megfigyeltem, hogy a (iii) csoport elemeinek a koncentrációja jelentősen másként változott a 80 és 100% (v/v)-os etanollal készült kivonatokban az extrahálási idő függvényében. Eleinte esetleg kismértékű növekedés volt tapasztalható, majd az értékek 1 nap után stagnáltak a 80 és 100% (v/v)-os etanol koncentrációjú tinktúrákban a Cu és a Cr elemeknél. Ezzel szemben jelentős csökkenést figyeltem meg a Fe, V, Mo és U elemeknél, ami az 1 órás és az 1 hetes extrakció között volt a legjelentősebb, 1 hét és 1 hónap extrakciós idő között egy kivétellel (Fe, 80 és 100% (v/v)) nem tapasztaltam szignifikáns csökkenést (Soós et al., 2019).

5.3.3. Az elemtartalom csökkenésének, illetve növekedésének lehetséges magyarázata

Más tanulmányok eddig nem foglalkoztak a propolisz tinktúra elemtartalmi változásával az idő függvényében, ezért más típusú mátrixokkal vettem össze az eredményeimet. Pytlakowska et al. (2012) gyógyteafüvekből készített forrázatokat vizsgáltak 10 és 30 perces áztatási idő mellett. Néhány forrázatban különböző trendeket figyeltek meg az egyes vizsgált elemekre. A Cu esetében néhány növényi forrázatnál növekedést, ugyanakkor a legtöbb esetben csökkenést tapasztaltak a 10 és 30 perces áztatási időt összehasonlítva. A Fe koncentrációja a kamilla forrázatban nőtt, a borsmentáéban és a csalánéban viszont csökkent az idő függvényében. A Zn tekintetében az orbáncfű forrázatában növekedést, a citromfű, a zsálya és a kamilla forrázatában pedig csökkenést tapasztaltak. Az Al koncentráció időbeli növekedését állapították meg az orbáncfű, ezzel ellentétes folyamatot a borsmenta forrázatában. Általánosságban a hárs forrázatában növekedést, a zsálya főzetében pedig csökkenést figyeltek meg a vizsgált elemek koncentrációja tekintetében, 10 és 30 perces áztatás között (Pytlakowska et al., 2012). Más kutatásokban is tapasztaltak hasonló csökkenést a gyógyteák

elemösszetételében az áztatási idő függvényében (Özcan, 2005). Juranović Cindrić et al. (2015) a galagonya forrázatában az elemkoncentrációkat tekintve elsősorban növekedést figyeltek meg, ugyanakkor 5 perc után ez nem volt szignifikáns. Boroknál jellemző, hogy az erjedés során, vagy azt követően egyes elemek kiválhatnak a folyadékból, mely nagyrészt kálium-hidrogéntartarát, kisebb részt pedig kalcium-hidrogéntartarát kiválást jelent (Lasanta és Gómez, 2012). Az almalében szintén megfigyelték ultrahangos kezelés hatására a Na, K és Ca koncentráció csökkenését, ugyanakkor a P, Cu és Mg koncentráció növekedését (Abid et al., 2014).

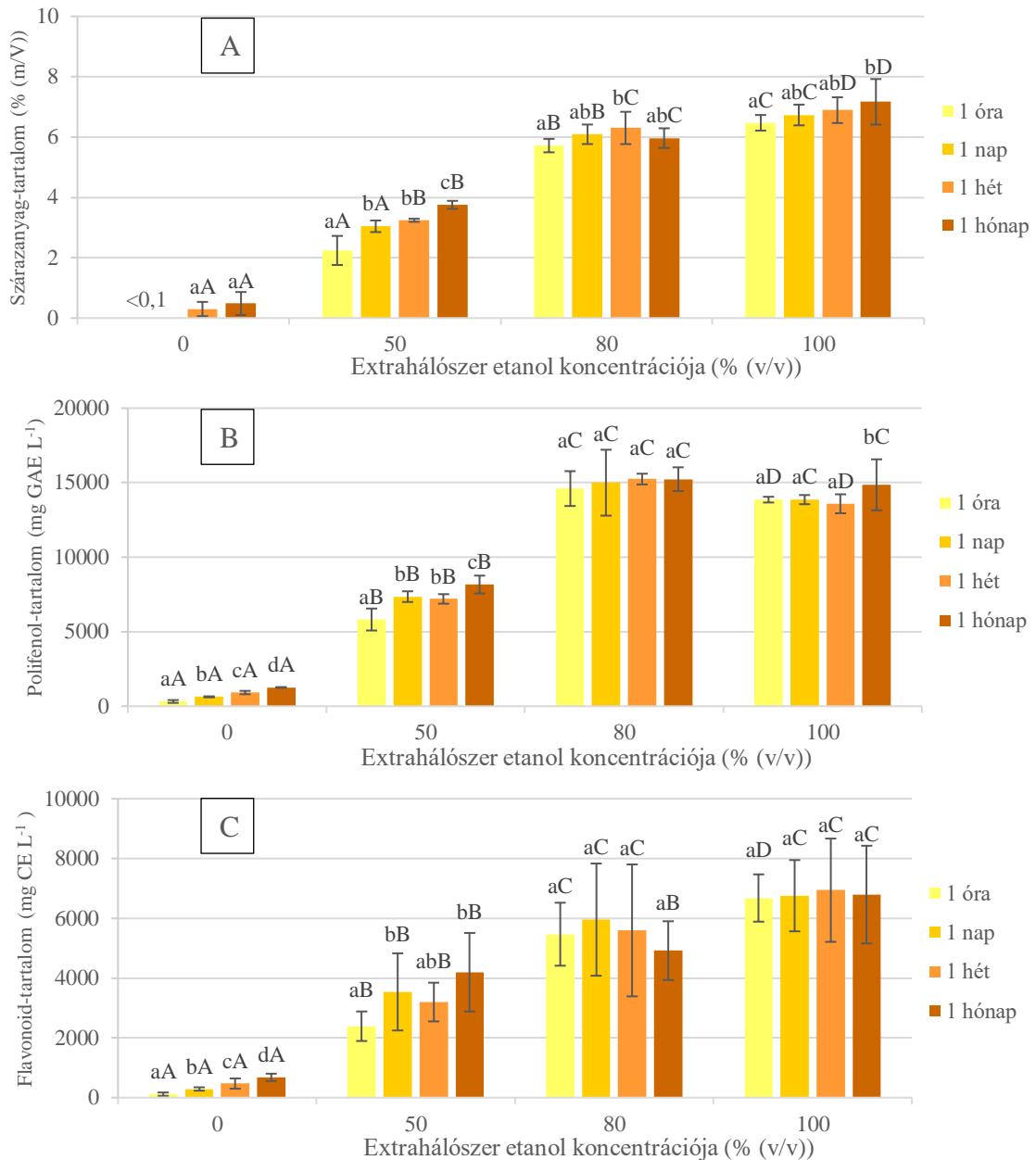
Az extrahálás esetén két folyamat indokolhatja a kivonat elemtartalmának változását. A növekedés magyarázható azzal, hogy minél tovább áll kontaktusban a kivonószer a nyers propolisisszal, elvileg annál nagyobb kell legyen a kivonószerben az elemek koncentrációja. A komponensek áramlása a nagyobb koncentrációjú hely felől a kisebb koncentrációjú hely felé irányul, tehát a rendszer az egyensúly, a kiegyenlítődés irányába törekszik (Paul et al., 2014). A csökkenés magyarázata az lehet, hogy a tinktúra nem valódi oldat, hanem egy kolloid rendszer. A már leszűrt tinktúrák tárolása során egyeseknél megfigyeltem, hogy üledék keletkezett a centrifugacsövek alján. Ez az üledék összerázás hatására visszaoldódott a tinktúrába. A koncentráció csökkenés oka tehát az lehet, hogy az etanol a kioldott elemeket nem tudja hosszabb időn keresztül oldatban tartani. Ez lehet a magyarázata a teákban tapasztalt csökkenésnek is, miszerint az adott elem komplexeket képez a szerves összetevőkkel, ezek oldhatósága pedig rossz a vizes kivonatban, illetve az oldat pH-ján (Pytlakowska et al., 2012). Az üledékképződés csak az extrahálási folyamat során eredményezhette az elemtartalom csökkenését az extrahálószerben. A leszűrt tinktúrák elemtartalmának meghatározásakor ez nem okozhatott hibát, mert a roncsolás előtt a tinktúra összerázásával kezdtem a bemérést. Ezáltal az esetleges üledék visszaoldódhatott, és homogén oldatból végeztem az előkészítést.

5.3.4. A tinktúrában mért szárazanyag-, polifenol- és flavonoid-tartalom

Korábbi tanulmányok rávilágítanak, hogy a flavonoidok komplexeket képeznek bizonyos fémekkel, mint pl. a Fe^{2+} és a Cu^{2+} ionokkal (Havsteen, 2002). A flavonoid-fémkomplexek élettani hatása hasonlíthat az eredeti flavonoid élettani hatásához. Általában nagy stabilitással rendelkeznek, de komplexként szignifikánsan csökken a fém toxicitása. Gyakran vizsgálták az egyes flavononok és flavonolok komplexképződését

Cu(II), Fe(III), Zn(II), Ni(II), illetve több más ionnal, köztük lantanoidákkal egyaránt (Selvaraj et al., 2014).

A fent említett publikációk alapján az elemtartalom és a flavonoid-tartalom összefüggést mutathat. Ennek elemzésére az elemösszetétel vizsgálata mellett meghatároztam a propolisz tinktúrákban a flavonoid-koncentrációt, valamint egyúttal a szárazanyag és a polifenolok mennyiségét egyaránt az extrakciós idő és a kivonószertanól koncentrációja függvényében (Soós et al., 2018, 24. ábra).



24. ábra: Propolisz tinktúrák (A) szárazanyag-, (B) polifenol- és (C) flavonoid-tartalma, az extrahálószer etanol tartalma és az extrahálási idő függvényében. Az eltérő nagybetűk a különböző kivonószerekkel készült oldatok közötti szignifikáns különbséget ($p < 0,05$) mutatják. Az eltérő kisbetűk szignifikáns eltérést ($p < 0,05$) jelzik az extrahálási idő függvényében. Az oszlopokon lévő hibaszáv a mérési bizonytalanságot ábrázolja.

Azt tapasztaltam, hogy ezen tinktúrák utóbbi három tulajdonsága hasonló tendenciát mutat. A vizes kivonatban volt a legalacsonyabb mindhárom paraméter. A szárazanyag-tartalom 1% (m/V) alatti értéket mutatott, sőt 1 óra és 1 nap extrakció után mérhető értékeket sem tudtam meghatározni belőlük (<0,1% (m/V)). Az idő függvényében viszont az értéke nőtt, 1 hónap után 0,49% (m/V) volt a minták szárazanyag-tartalma. A polifenolok és a flavonoidok koncentrációja szintén a vizes kivonatban volt a legalacsonyabb, ugyanakkor az idő függvényében szignifikáns növekedést tapasztaltam mindkét esetben. Az 1 hónapos áztatást követően a polifenolok koncentrációja 1260 mg GAE L⁻¹, a flavonoidoké pedig 679 mg CE L⁻¹ volt. Az 50% (v/v)-os etanol koncentrációjú kivonatban volt a második legalacsonyabb mindhárom mért paraméter mennyisége. Az idő függvényében ugyan tapasztaltam tendenciális növekedést, de ez nem volt minden esetben szignifikáns. A szárazanyag- és a polifenol-tartalomnál az 1 napos és 1 órás áztatás nem eredményezett szignifikáns változást. A flavonoidok koncentrációjában 1 nap után növekedést, 1 hét után viszont enyhe csökkenést tapasztaltam, majd 1 hónap extrakciós idő esetén ismét magasabb értéket mértem, igaz a legutóbbi érték nem volt szignifikánsan magasabb az 1 napos áztatással készült tinktúrához viszonyítva. Az 50% (v/v)-os etanol koncentrációjú kivonatban a szárazanyag-tartalom 2,25–3,75% (m/V), a polifenol-tartalom 5820–8160 mg GAE L⁻¹, a flavonoid-tartalom pedig 2390–4200 mg CE L⁻¹ között alakult.

A második legmagasabb szárazanyag- és flavonoid-tartalmat a 80% (v/v)-os etanol koncentrációjú kivonatoknál kaptam, míg a polifenoloknál a második legmagasabb koncentrációt a 100% (v/v)-os etanol koncentrációjú kivonatokban tudtam meghatározni. Ugyanakkor ezek az értékek nem minden esetben adtak szignifikáns eltérést a különböző áztatási idők, vagy a két különböző etanol koncentrációjú kivonószerezrel készült tinktúrák között. Például a 80 és 100% (v/v)-os etanol koncentrációjú kivonatokban a flavonoid koncentráció, illetve a 80% (v/v)-os etanol koncentrációjú kivonatban a polifenol-tartalom vonatkozásában nem tapasztaltam szignifikáns növekedést az idő függvényében. Abban az esetben, ha mégis szignifikáns volt a különbség, akkor is alacsony volt az eltérés közöttük. Az 1 órás extrahálással készült kivonat polifenol- és szárazanyag-tartalmához képest enyhe, de szignifikáns növekedést mértem az idő függvényében a 100% (v/v)-os etanol koncentrációjú kivonatokban. Továbbá a 80% (v/v)-os etanoltartalmú kivonatban is növekedett a szárazanyag-tartalom az 1 hetes extrahálásig, de az 1 hónapos extrahálás után enyhe csökkenést mértem. A 80 és 100% (v/v)-os etanoltartalmú tinktúrákban a szárazanyag-tartalom 5,72–7,17% (m/V), a polifenol-

tartalom 13600–15200 mg GAE L⁻¹, a flavonoid-tartalom pedig 4920–6940 mg CE L⁻¹ között változott.

Összefoglalva a tapasztaltakat, a vizes kivonatban a legalacsonyabb a szárazanyag-, a polifenol- és a flavonoid-tartalom, de szignifikánsan növekvő tendenciát mutat az extrahálási idő függvényében. A harmadik legmagasabb értékeket az 50% (v/v)-os etanoltartalmú kivonatokban találtam, ahol többnyire szignifikáns növekedést tapasztaltam az idő függvényében. A legmagasabb szárazanyag- és flavonoid-tartalmat a 100% (v/v)-os, a legmagasabb polifenol-tartalmat a 80% (v/v)-os etanoltartalmú etanol-víz elegyben kaptam, de a különbség sok esetben nem szignifikáns a második legmagasabb értékhez viszonyítva, és az idő függvényében sem minden esetben tapasztaltam növekedést ezekben a tinktúrákban az említett három paraméter koncentrációjában.

5.3.5. A flavonoidok és az elemtartalom közötti összefüggés

A szárazanyag-, polifenol- és flavonoid-tartalmat összehasonlítva az elemtartalmi eredményekkel elmondható, hogy az elemek többsége, melyeket az (i) és (ii) csoportba soroltam, az előbb említett tényezők változásával ellentétes tendenciát mutatott. Az látszik, hogy a víz nem képes olyan mértékben kioldani pl. a flavonoidokat, mint az etanoltartalmú kivonószerek, ezzel szemben az (i) és (ii) csoportokba tartozó elemeket, vagyis a vizsgált 36 esetből 29-ben 1 hónap után a víz extrahálta a legnagyobb mértékben.

Ugyanakkor a vízben oldódó flavonoidok és az elemek között összefüggés figyelhető meg az extrahálási idő függvényében. A vízben az extrahálási idő előrehaladtával a flavonoidok mennyisége jelentősen növekedett az elemek koncentrációjával összhangban. A vizes kivonatok figyelembe véve, 1 mg L⁻¹ fölötti koncentrációban a Ca, K, Mg, Na, P, S és Zn fordult elő. A 19. táblázatban tüntettem fel a vizes kivonatokban mért anyagmennyiség koncentrációját mmol L⁻¹-ben ezeknek az elemeknek, valamint a flavonoidoknak. A flavonoidok moláris tömegének számításánál 293 g mol⁻¹ átlagos moláris tömeget vettem figyelembe (Gates és Lopes, 2012).

A 19. táblázatból látszik, hogy az említett elemek anyagmennyiség koncentrációja az egyes extrakciós időközön belül közel egy nagyságrendbe esik a flavonoidokéval, valamint a tendenciájuk is megegyezik. A legmagasabb értékeket 1 hónapos extrahálást követően kaptam az egyes komponensekre. A Pearson-féle korrelációs együtthatót meghatározva minden esetben 0,95 fölötti értéket kaptam, valamint a statisztikai próba alapján szignifikáns az összefüggés az egyes elemek és a flavonoidok koncentrációja között.

19. táblázat: A Ca, K, Mg, Na, P, S, Zn és a flavonoidok vizes (0% (v/v) etanollal készült) propolisz kivonatban mért átlagos anyagmennyiség koncentrációja a különböző extrahálási idők mellett (mmol L⁻¹)

extrakciós idő	az egyes komponensek anyagmennyiség koncentrációja a propolisz vizes kivonatában (mmol L ⁻¹)							
	Ca	K	Mg	Na	P	S	Zn	összes flavonoid
1 óra	0,354	0,726	0,182	0,055	0,259	0,135	0,044	0,396
1 nap	0,729	1,38	0,340	0,090	0,410	0,261	0,102	0,987
1 hét	1,09	1,90	0,525	0,117	0,564	0,316	0,173	1,61
1 hónap	1,30	2,18	0,670	0,140	0,688	0,356	0,210	2,32

Az etanoltartalmú kivonatokban is megvizsgáltam a korrelációt. Az 50% (v/v)-os etanoltartalmú tinktúrában a 19. táblázatban szereplő mindegyik elemnél 0,8 fölötti volt a korrelációs együttható a flavonoidokkal összehasonlítva, de már nem volt szignifikáns a kapcsolat. Továbbá megállapítottam, hogy a 80 és 100% (v/v)-os etanollal készült tinktúráknál az együttható még alacsonyabb, és nincs szignifikáns összefüggés az elemek és a flavonoidok koncentrációja között az extrahálási idő függvényében.

Ezek alapján a nagyobb koncentrációjú elemeknél az etanoltartalmú kivonatokban nem tudtam összefüggést találni a flavonoidok és az elemek koncentrációja között, csak a vizes kivonatban találtam kapcsolatot. Utóbbi esetben a tendenciájuk is hasonló, mivel az idő függvényében növekedést tapasztaltam a koncentrációjukban, valamint az anyagmennyiség koncentrációjuk is közelebb áll egymáshoz, mint a 80 vagy 100% (v/v)-os etanollal készült kivonatokban. Azonban ez elsősorban annak tudható be, hogy az idő függvényében mind az elemek, mind a flavonoidok a koncentráció kiegyenlítésére törekedtek. Viszont amennyiben komplexként lennének jelen, véleményem szerint az etanos közegben is növekedést kellett volna tapasztaljak.

Ebből következik az, hogy az (i) és (ii) csoportba sorolt elemek elsősorban nem a flavonoidokhoz kötődnek, hanem egyéb molekulákhoz kötötten vagy ionos formában lehetnek jelen a nyers propoliszban.

Az elemek egy szűkebb csoportja, melyeket a (iii) csoportba soroltam, a 80 vagy 100% (v/v)-os etanol koncentrációjú kivonatban fordulnak elő a legnagyobb koncentrációban. Ezen elemek eredményeivel együtt a flavonoid-tartalom is hasonló tendenciát mutatott a mintákban. Az elemek és a flavonoidok koncentrációja közötti lineáris kapcsolat nagyságának meghatározására kiszámoltam a Pearson-féle lineáris korrelációt az extrakciós idő (20. táblázat) és az extrahálóközeg etanol koncentrációja (21. táblázat) függvényében.

20. táblázat: A különböző etanol koncentrációjú (0, 50, 80 és 100% (v/v)) extrahálószerrel készült propolisz tinktúrákban a flavonoid-tartalom és az elemek koncentrációja közötti Pearson-féle korrelációs együtthatók az extrahálási idők (1 óra, 1 nap, 1 hét, 1 hónap) függvényében. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

kivonószer etanol koncentrációja (% (v/v))	a flavonoid-tartalom és az elemek moláris koncentrációja közötti Pearson-féle korrelációs együttható					
	Cu	Fe	V	Cr	U	Mo
0	0,819**	0,428	0,504	0,966**	0,845**	n.sz.
50	0,755**	0,766**	-0,113	0,757**	0,741**	-0,223
80	0,066	0,369	0,099	-0,031	0,077	0,109
100	0,157	-0,047	-0,296	-0,223	0,390	-0,085

n.sz.: nem számolva

A 20. táblázatból az látszik, hogy az extrahálási idő függvényében szignifikáns összefüggést csak a 0 és 50% (v/v)-os etanollal készült kivonatok esetében találtam az egyes elemkoncentrációk és a flavonoid-tartalom között, azon belül is mindössze a Cu, Fe, Cr és U elemeknél. Ugyanakkor a 80 és 100% (v/v)-os etanollal készült tinktúrákat vizsgálva az előbb említett elemekkel sem volt szignifikáns korrelációs kapcsolata a flavonoidoknak. A Mo és a V elemek egyik etanol koncentráció esetében sem mutattak korrelációt a flavonoidok koncentrációjával az extrahálási idő függvényében.

21. táblázat: A különböző ideig (1 óra, 1 nap, 1 hét, 1 hónap) extrahált propolisz tinktúrákban a flavonoid-tartalom és az elemek koncentrációja közötti Pearson-féle korrelációs együtthatók az extrahálószer etanol koncentrációja (0, 50, 80 és 100% (v/v)) függvényében. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$;

extrahálási idő	a flavonoid-tartalom és az elemek moláris koncentrációja közötti Pearson-féle korrelációs együttható					
	Cu	Fe	V	Cr	U	Mo
1 óra	0,892**	0,932**	0,958**	0,836**	0,628*	0,488
1 nap	0,892**	0,932**	0,958**	0,836**	0,628*	0,488
1 hét	0,725**	0,901**	0,923**	0,622*	0,553	-0,042
1 hónap	0,572	0,869**	0,779**	0,072	-0,246	-0,534

A 21. táblázat szerint az extrahálószer etanol koncentrációja függvényében mindegyik időtartamnál szignifikáns ($p < 0,01$) kapcsolatot találtam a Fe és a V elemek, valamint a flavonoidok koncentrációja között. Megállapítottam továbbá, hogy a Cu csak az 1 hónapos kezelésnél nem mutatott szignifikáns kapcsolatot a flavonoidokkal az etanol koncentráció változása függvényében, de ez esetben is magas volt a Pearson-féle korrelációs együttható. Ezen eredmények alapján a Fe, V, és Cu elemek esetében erős a kapcsolat a flavonoidok koncentrációjával. A Cr az első három extrahálási idő alatt

mutatott szignifikáns kapcsolatot a flavonoiddal, igaz hogy 1 hét után csak magasabb ($p < 0,05$) szignifikancia szinten. Az U csak 1 óra és 1 nap extrakciós idővel készült tinktúrákban mutatott szignifikáns kapcsolatot ($p < 0,05$), míg a Mo nem mutatott szignifikáns összefüggést a flavonoidok koncentrációjával az extrahálószer etanol koncentrációja függvényében.

A 20. és 21. táblázat eredményeit összevetve az látszik, hogy a flavonoidok és az elemek koncentrációi között erősebb kapcsolat áll fenn az extrahálószer etanol koncentráció változásának függvényében, mint az extrahálási idő alapján. Viszont amennyiben az elemek a flavonoidokkal alkotott komplexként lennének jelen, akkor az extrahálási idő változásával is erős kapcsolat kellene fennálljon köztük.

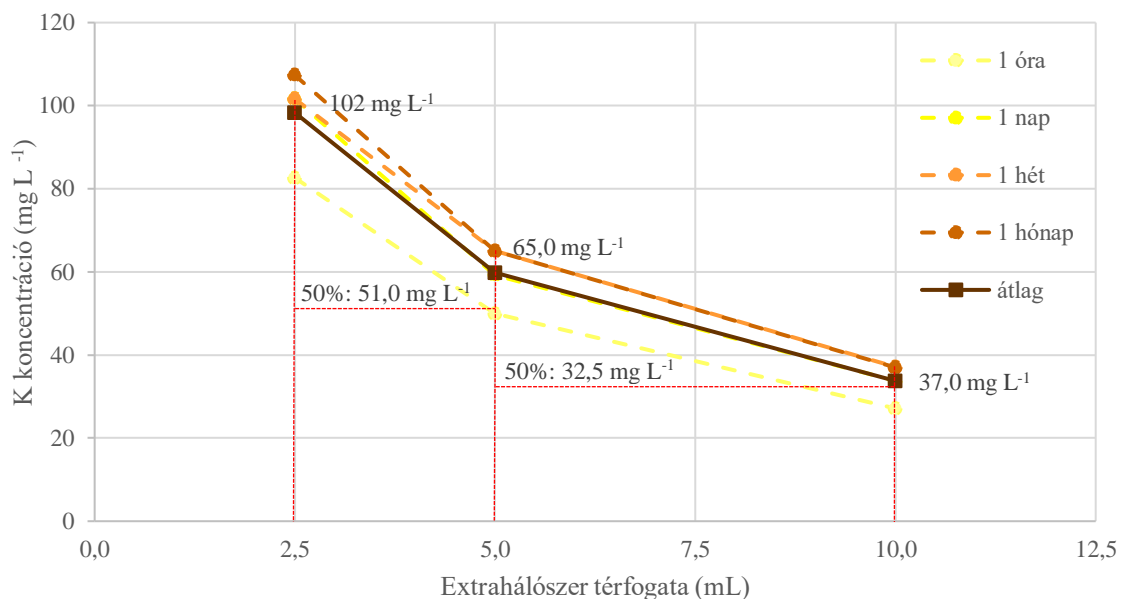
Összevettem az extrahálási idő és a kivonószer etanol koncentrációja függvényében kapott korrelációs együtthatókat. A korrelációs együtthatók a flavonoidok és a Mo koncentrációja között egyik esetben sem mutattak szignifikáns összefüggést. Az U és a Cr tinktúrákban mért koncentrációja csak rövid extrahálási idő mellett, és csak a 0 és 50% (v/v)-os etanol koncentrációjú kivonatokban mutatott lineáris összefüggést a flavonoidok koncentrációjával. A V koncentráció minden esetben erős összefüggést adott a flavonoidok koncentrációjával az extrahálószer etanol koncentrációja függvényében, de egy esetben sem volt szignifikáns összefüggés az extrahálási idő függvényében. A Fe és a Cu szintén erős kapcsolatot mutatott a flavonoid koncentrációval az extrahálószer etanol koncentrációjának függvényében, de az extrahálási idő függvényében a Cu csak a 0 és 50% (v/v)-os, a Fe csak az 50% (v/v)-os etanol koncentrációjú kivonatok esetében reagált hasonlóan, mint a flavonoidok. Összességében tehát nem volt olyan elem, ami az extrakciós idő és az extrahálóközeg etanol koncentrációja függvényében is minden körülmények közt szignifikáns korrelációt mutatott volna a flavonoidok koncentrációjával, de a Fe, Cu, U és a Cr állt hozzá legközelebb.

A flavonoidok és az elemek mennyiségét is összevettem egymással. A 100% (v/v)-os etanolt tartalmazó kivonatban az átlagos flavonoid-tartalom $6680 \text{ mg CE L}^{-1}$, tehát az átlagos moláris tömegével (Gates és Lopes, 2012) számolva $22,7 \text{ mmol L}^{-1}$. Ugyanebben az oldatban a Fe anyagmennyiség koncentrációja $0,021 \text{ mmol L}^{-1}$, Cu esetében $0,0012 \text{ mmol L}^{-1}$, míg a (iii) csoportba tartozó többi elemnél ez még kisebb. Ebből az látszik, hogy az elemek moláris koncentrációja elhanyagolható a flavonoidok teljes mennyiségéhez képest. Tehát ha esetleg mégis komplexként lennének jelen a propoliszokban, a komplexek mennyisége elhanyagolható lenne a teljes flavonoid koncentrációhoz képest.

5.3.6. A koncentráció változása a kivonóközeg térfogatának függvényében

Annak érdekében, hogy a kivonószer térfogatának hatását fel tudjam mérni a kivonat elemtartalmára, az átlagos összetételű keverék propoliszból azonos mennyiségeket mértem be (0,5000 g), majd 2,5 mL, 5,0 mL és 10 mL extrahálószerrel készítettem belőle kivonatok. A kísérletet 80 és 100% (v/v)-os etanollal végeztem el, a korábban alkalmazott időtartamokig. Az extrahálószerből a 2,5 mL-hez képest tehát kétszeres, illetve négyszeres térfogatot alkalmaztam a tinktúra készítéséhez. Azért, hogy össze tudjam hasonlítani a kinyert elemek arányát a térfogatok függvényében, a minták elemkoncentrációját (egységnyi térfogatban lévő elemtartalom) átszámoltam elemtartalomra (a kinyert elem mennyisége). Ezzel korrigáltam az extrahálószer eltérő térfogatát, és az elemek adott tinktúrabeli összes mennyiségét kaptam meg. Ezután kiszámoltam az elemtartalmak hányadosát az 5,0 mL/2,5 mL, illetve a 10 mL/5,0 mL térfogatú extrahálószerrel készült tinktúrák esetében.

A koncentrációk változását először a K példáján keresztül mutatom be szemléletesen a 25. ábrán, melyet a legnagyobb koncentrációban tartalmazott a tinktúra a vizsgált elemek közül.

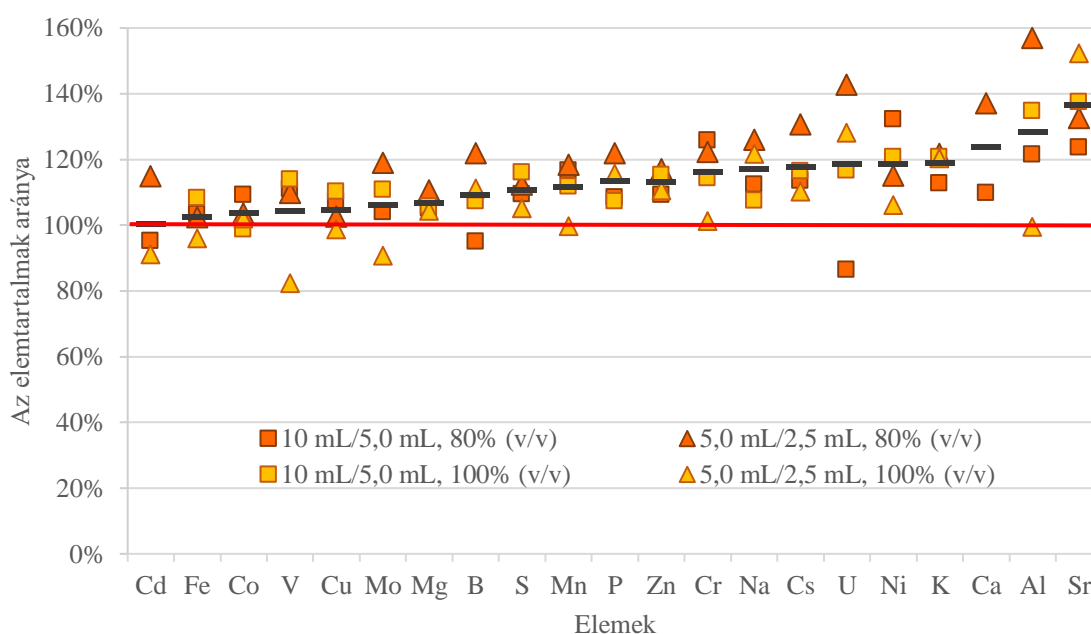


25. ábra: A K koncentrációjának függése a 80% (v/v)-os etanoltartalmú extrahálószer térfogatától (2,5 mL, 5,0 mL, 10 mL)

A 2,5 mL, 80% (v/v)-os etanol koncentrációjú extrahálószerrel készült tinktúrában a K koncentrációja az 1 hetes extrakcióval készült kivonatban 102 mg L^{-1} (az elemtartalom $102 \text{ mg L}^{-1} \cdot 0,0025 \text{ L} = 0,255 \text{ mg}$), az összes vizsgált időtartam átlagát figyelembe véve. A kétszer ekkora térfogatú kivonószerrel készült tinktúrában a koncentrációja $65,0 \text{ mg L}^{-1}$

(az elemtartalom $65,0 \text{ mg L}^{-1} \cdot 0,005 \text{ L} = 0,325 \text{ mg}$), ami 63,7%-a az előbb említettnek. Ha ezt korrigálom azzal, hogy kétszer annyi extrahálószerrel készült a tinktúra (vagyis megszorozom 2-vel), azt kapom, hogy az arányuk 127,4%. A 10 mL 80% (v/v)-os etanollal készült tinktúrában $37,0 \text{ mg L}^{-1}$ a K koncentrációja (az elemtartalom $37,0 \text{ mg L}^{-1} \cdot 0,01 \text{ L} = 0,370 \text{ mg}$), ami pedig 56,9%-a az 5,0 mL extrahálószerrel extrahált oldathoz képest. Ezt korrigálva a térfogattal, az elemtartalmak aránya 113,8%. Tehát az említett esetekben 27,4 és 13,8%-kal több K nyerhető ki a tinktúrából kétszeres térfogatú extrahálószerrel.

A további elemek kinyerhető mennyiségének arányát a 26. ábrán mutatom be, a 80 és 100% (v/v)-os etanollal készült kivonatok esetében. Az egyes pontokat az adott kezeléshez tartozó összes extrahálási idő (1 óra, 1 nap, 1 hét, 1 hónap) eredményei átlagának figyelembevételével határoztam meg.



26. ábra: Az elemtartalmak változása a propolisz tinktúrákban az extrahálószer térfogatának duplázása függvényében, 80 és 100% (v/v) etanoltartalmú kivonatokban

A 26. ábrán azt figyelhetjük meg, hogy a 10 mL/5,0 mL és az 5,0 mL/2,5 mL mennyiségű extrahálószerrel készült tinktúrák elemtartalmainak átlagos aránya (fekete téglalap) 100% és 137% közötti. Ez azt jelenti, hogy a kétszeres mennyiségű extrahálószerrel végzett extrahálás során a kinyerhető elemtartalom többnyire magasabb. Amennyiben a kinyerhető elemtartalom független lenne az extrahálószer térfogatától, akkor 100% lenne a kapott érték, mint ahogyan azt a piros vonallal jelöltem az ábrán. Ugyanakkor a kinyerhető elemtartalmak aránya egy esetben sem érte el a 200%-ot, ami

azt jelentette volna, hogy az átlagos elemkoncentrációja ugyanannyi a két tinktúrának, függetlenül az alkalmazott extrahálószer térfogatától. A fenti megállapításokból adódik az is, hogy a kétszer akkora mennyiségű extrahálószer hatására minden esetben csökkent az elemek koncentrációja a tinktúrában.

A legmagasabb átlagos arányt az említett kezelések alapján a Sr esetében tapasztaltam 137%-os értékkel, míg a legalacsonyabb átlagos aránya a Cd-nak volt a tinktúrák között. Nem tudtam meghatározni a Ca koncentrációját a 100% (v/v)-os etanollal készült tinktúrákban, illetve a Cd került kimutatási határ alá a 10 mL 100% (v/v)-os etanollal készült tinktúrában. Utóbbi két elem esetében csak a számolható értékek alapján határoztam meg az átlagukat. A lantanoidák, illetve a Ba koncentrációja minden esetben kimutatási határ alatt volt a vizsgált tinktúrákban, ezért nem tudtam számolni az elemtartalom arányukat az említett kezelések esetében.

Az átlagos arány az összes meghatározható elemet figyelembe véve 113%. Az átlagos hányados $100\pm 10\%$ -on belüli a Cd, Fe, Co, V, Cu, Mo, Mg és B elemeknél. Az említetteken felül $100\pm 20\%$ -on belüli az eltérés a S, Mn, P, Zn, Cr, Na, Cs, U és a K elemeknél. Ennél magasabb, 124–137% közötti az arány a Ca, Al és a Sr esetében.

Nem figyeltem meg egyértelmű tendenciát abban a tekintetben, hogy a 80 vagy 100% (v/v)-os etanol koncentrációjú kivonatokban (narancs és sárga jelölők), illetve az 5,0 mL/2,5 mL vagy 10 mL/5,0 mL (háromszög és négyzet jelölők) tekintetében magasabb vagy alacsonyabb lenne az elemek aránya. Az elemtartalom arányok jelentős különbségeket mutattak, ugyanis pl. az Al esetében 99–157% közötti arányokat kaptam, az U tekintetében ez 87–143% közötti értéket eredményezett. Viszont jellemzően a nagy koncentrációjú elemek, pl. a K, Mg vagy a Zn esetében a különbségek alacsonyak az eltérő kezelések között.

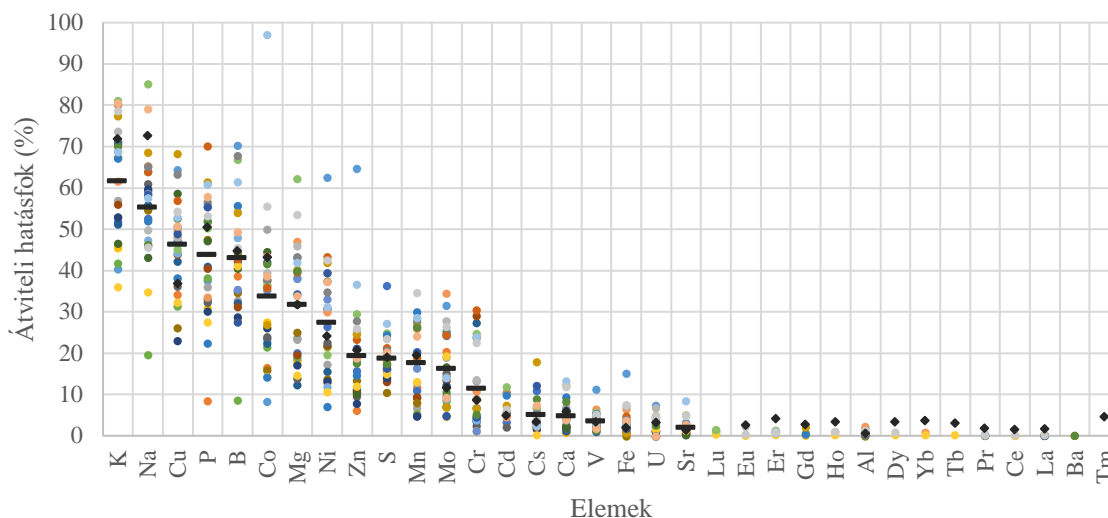
Ezek alapján tehát elmondható, hogy a tinktúra készítésénél hatása van az extrahálószer térfogatának a végtermék elemtartalmára. Nagyobb térfogatú extrahálószer használatával csökken a tinktúra koncentrációja, viszont általában nő a kinyerhető elem mennyisége.

5.4. Propolisz tinktúrák elemtartalmi összetétele

5.4.1. A nyers propolisz elemtartalmának átviteli határfoka (TC) a tinktúrába

Meghatároztam azt, hogy a tinktúrakészítési gyakorlatban leggyakrabban alkalmazott elkészítési körülményekhez hasonlóan, 1 hétig, 80% (v/v)-os etanollal extrahálva milyen az elemek átviteli határfoka (TC) a nyers propoliszból a tinktúrába. Az átviteli határfokot

az „Anyag és módszer” fejezet 33. oldalán bemutatott egyenlet alapján számoltam ki. Az eredményeimet a 27. ábrán mutatom be. Ehhez a rendelkezésre álló nyers propoliszok közül véletlenszerűen kiválasztottam 27 mintát (színes pontokkal jelölve az ábrán), emellett az áztatási idő és extrahálószer hatásának vizsgálatához használt keverék minta esetén is kiszámoltam az átviteli hatásfokot, ugyanilyen extrahálási körülmények mellett (fekete, ferde négyzettel jelölve az ábrán). Ezen felül a 27 minta átviteli hatásfokának átlagát fekete téglalapokkal jelöltem azon elemek esetében, melyeknek az átviteli hatásfoka minden mintában mérhető volt, így ki tudtam számolni az átlagukat.



27. ábra: Az elemek átviteli hatásfokának alakulása a nyers propoliszból a tinktúrába, 80% (v/v)-os etanollal végzett 1 hetes extrahálás után (n=27)

Az eredmények alapján az figyelhető meg, hogy az extrahálási idő és az extrahálószer összetételének vizsgálata alapján az (i) csoportba sorolt elemek – vagyis amelyek a vizes közegben oldódtak drasztikusan jobban – értelemszerűen alacsony átviteli hatásfokkal rendelkeznek a 80% (v/v)-os etanollal készült tinktúrában. A Ca és a Sr átoldódásának mértéke mindössze $4,81 \pm 3,60\%$, illetve $2,02 \pm 1,87\%$. A Cd a tinktúrák több mint felében kimutatási határ alatt volt jelen, így nem tudtam megadni sem az átlagát, sem a mediánt, de a legmagasabb érték is mindössze 11,8% volt. A Ba a 27 mintából mindössze kettőben volt kimutatási határ fölött, de az átviteli hatásfoka itt sem éri el a 0,1%-ot. Hasonló a helyzet a ritkaföldfémeknél is, ahol a La a 27 mintából mindössze 11-ben volt mérhető, a többi elem kevesebb mint 10 mintában volt jelen kimutatható koncentrációban. Ráadásul a Nd, Sm és a Tm elemeket a 27 vizsgált tinktúra egyikében sem tudtam kimutatni, emiatt nem tudtam meghatározni az átviteli hatásfokát ezeknek az elemeknek. Azokban a mintákban, melyekben mérhető koncentrációban voltak jelen a ritkaföldfémek, a TC

egyik esetben sem haladta meg a 2,35%-ot. A keverék propoliszban a TC a Cd, Ca és a Sr esetében hasonló mértékű, a Ba átviteli hatásfoka ugyancsak nem határozható meg, viszont a ritkaföldfémek a keverék mintából jellemzően nagyobb mértékben, 1,63–4,28% közötti arányban oldódtak át. A 27 minta egy részével ellentétben a Lu nem volt mérhető a keverék propoliszból készült tinktúrákban, a Tm viszont a többi mintával szemben mérhető koncentrációban volt jelen, így ki lehetett számolni az átviteli hatásfokát. Ennek ellenére a lantanoidáknál így is elhanyagolható, 5% alatti az átoldódás mértéke.

A (ii) csoportba sorolt elemeknél – vagyis amelyek jól oldódnak a vizes közegben, de közel hasonló mértékben oldódnak a 80% (v/v)-os etanolban – az átoldódás mértéke általában viszonylag magas. Növekvő sorrendben a Mn, S, Zn, Mg, Co, B, P, Na és a K elemek 17,8%, 18,8%, 19,4%, 31,8%, 33,8%, 43,1%, 43,8%, 55,3% és 61,8%-a jutott át átlagosan a nyers propoliszból a tinktúrába. Ennél alacsonyabb az átviteli hatásfoka a Cs-nak 5,13%-kal, amely az előzőekkel ellentétben nem esszenciális az emberi szervezet számára. A (ii) csoport elemei mindegyik tinktúrában mérhető koncentrációban voltak jelen. Ugyan a legmagasabb átlagos átviteli hatásfoka a K-nak volt $61,8 \pm 13,7\%$ -kal, de az összes mintát figyelembe véve a legmagasabb átviteli hatásfokkal mégsem ez az elem rendelkezett, ugyanis a Na és a Co is megelőzi egy-egy esetben a legmagasabb K-ot. Előbbinek 85,1%, az utóbbi elemnek pedig 97,1% a legmagasabb átviteli hatásfoka, míg a K legmagasabb TC értéke 81,2%. A keverék propoliszban jellemzően kissé magasabb átviteli hatásfokokat kaptam a 27 minta átlagos értékeihez hasonlítva, de ezek sem térnek el a jellemző tartományuktól. A legnagyobb eltérése a 27 mintában leírtakhoz képest a Na-nak volt, ahol az átlagos átviteli hatásfok 55,3%, míg a keverék propoliszból 72,7% volt az átoldódás mértéke a 80% (v/v)-os etanollal készült tinktúrába. A Na a keverék propolisz esetében ezzel a legmagasabb átviteli hatásfokkal rendelkező elem a vizsgált elemek közül.

Annak ellenére, hogy a (iii) csoportra az volt jellemző, hogy nem a vizes, hanem a 80 vagy 100% (v/v)-os etanoltartalmú közegben oldódtak a legjobban, az esetek többségében mégis viszonylag alacsony volt a TC a nyers propoliszok és a 80% (v/v)-os etanoltartalmú tinktúrák között, 1 hét extrakciós idő után. A (iii) csoport elemei közül a Cu rendelkezik a legnagyobb átviteli hatásfokkal, átlagosan $46,32 \pm 11,36\%$ -kal. A V, Cr és Mo elmarad ettől $3,63 \pm 2,10\%$, $11,54 \pm 9,40\%$ és $16,38 \pm 8,61\%$ értékkel. A többi ide sorolt elemet tekintve a Fe egy, az U hat tinktúrában volt kimutatási határ alatt, emiatt nem tudtam meghatározni a TC átlagos értékét, csak a mediánját ezekben az esetekben. Az utóbbi két elem átviteli hatásfokának mediánja 2,53%, illetve 2,59%. A keverék

propoliszból a tinktúrába az előbb bemutatott elemek átviteli hatásfoka jellemzően valamennyivel alacsonyabb, vagy hasonló volt. A Cu és a Mo átoldódásának mértéke csak 37,0% és 11,6%, míg a többi elem esetében nem számottevő az eltérés, így hasonlóan tekinthető, mint a 27 minta alapján meghatározott átlagos átviteli hatásfok, vagy a medián.

Az említett csoportokba nem sorolható elemek közül az Al átviteli hatásfoka az (i) csoporthoz hasonlóan rendkívül alacsony, bármely mintából 2,25%, vagy az alatti, sőt egy tinktúrában kimutatási határ alatt volt jelen, a Ni TC-a pedig a (ii) csoportéhoz hasonló, átlagosan 27,4%.

A 27 minta átviteli hatásfokának számszerű értékeit a 22. táblázat tartalmazza, a tinktúrában mért elemkoncentrációk mediánja szerint sorba rendezve az elemeket.

5.4.2. Az átviteli hatásfok összehasonlítása irodalmi adatokkal

Az átviteli hatásfokhoz kötődő eredményeimet összehasonlítottam Cvek et al. (2008) adataival, melynek átlagos értékeit a 3. táblázatban mutattam be. Elmondható, hogy esetükben szembetűnően magasabb a különbség az egyes mintáknál tapasztalt átviteli hatásfokok között, annak ellenére, hogy mindössze 9 propoliszt vizsgáltak. Például a Na tekintetében a legkisebb és a legnagyobb átviteli hatásfok 5,64 és 62,64%, a B-nál 4,62 és 94,36%, míg a Mn-nál 1,85 és 49,52%. A maximum és a minimum értékek különbsége tehát mindhárom elemnél több mint tízszeres. A minták között tapasztalt jelentős különbség ellenére az eredményeimel összehasonlítva nagy a hasonlóság a K, B, Cu, Mn és a Zn elemek átlagos átviteli hatásfokát, illetve a Fe mediánját tekintve. Nagyobb különbséget figyeltem meg a Mg és az Al TC-ában, ugyanis az eredményeim mediánja 33,8% és 0,55%, míg a horvát mintákban a TC átlagos értéke $8,21 \pm 4,92$ és $3,28 \pm 1,89\%$ az említett elemek esetében. Ehhez hasonló mértékű eltérés volt a Na esetében is, ahol Cvek et al. (2008) vizsgálatai alapján az átviteli hatásfok $29,53 \pm 15,37\%$, míg a mintáimban ennél magasabb, $55,3 \pm 13,0\%$ volt ugyanez a paraméter. Esetükben jóval magasabb az átoldódás mértéke az (i) csoportba sorolt elemeknél, mégpedig a Ca, Ba és a Sr tekintetében, ugyanis az általuk vizsgált mintákban $48,24 \pm 19,16\%$, $27,91 \pm 17,67\%$ és $15,28 \pm 11,36\%$ az említett elemek átoldódásának mértéke. Az általam vizsgált mintákban ugyanezen elemek átviteli hatásfoka $4,81 \pm 3,60\%$, $<0,1\%$ és $2,02 \pm 1,87\%$ volt.

22. táblázat: A nyers propoliszokból készült tinktúrák (n=27) elemtartalmi eredményei (80% (v/v)-os etanollal, 1 hétig extrahálva), illetve az átviteli hatások (TC) a nyers propoliszokból a tinktúrába

Elem (csoport)	tinktúrákban mért koncentráció						átviteli hatások (%)				
	mértékegység	medián	átlag	szórás	minimum	maximum	medián	átlag	szórás	minimum	maximum
K (ii)	mg L ⁻¹	50,6	55,6	19,5	27,8	101	67,3	61,8	13,7	36,1	81,2
P (ii)	mg L ⁻¹	10,7	12,4	7,0	1,80	31,5	47,4	43,8	14,0	8,53	70,2
Mg (ii)	mg L ⁻¹	4,71	5,30	2,10	1,52	9,89	32,8	31,8	13,5	12,3	62,3
S (ii)	mg L ⁻¹	4,47	5,00	2,37	1,04	10,6	17,7	18,8	5,4	10,4	36,3
Ca (i)	mg L ⁻¹	1,96	2,47	1,50	0,516	5,59	4,14	4,81	3,60	0,85	13,3
Na (ii)	mg L ⁻¹	1,92	2,44	1,60	1,05	9,21	56,8	55,3	13,0	19,6	85,1
Zn (ii)	mg L ⁻¹	1,28	2,22	3,68	0,217	15,9	18,0	19,4	11,9	6,13	64,7
Fe (i)	mg L ⁻¹	0,464	-	-	<0,0153	3,54	2,46	-	-	-	15,1
B (ii)	mg L ⁻¹	0,259	0,261	0,067	0,115	0,416	42,6	43,1	14,1	8,64	70,3
Mn (ii)	µg L ⁻¹	96,0	111	63	7,16	258	18,5	17,8	9,12	4,79	34,6
Cu (iii)	µg L ⁻¹	90,6	130	138	20,8	736	47,6	46,3	11,4	23,1	68,2
Al (-)	µg L ⁻¹	81,0	-	-	<0,0111	1,15	0,56	-	-	-	2,24
Ni (-)	µg L ⁻¹	9,62	18,4	37,4	1,25	202	25,4	27,4	13,2	7,02	62,6
Cr (iii)	µg L ⁻¹	6,52	16,6	28,0	1,44	117	8,73	11,5	9,40	1,20	30,4
Co (ii)	µg L ⁻¹	3,77	6,92	10,6	0,290	55,2	36,1	33,8	17,4	8,36	97,1
Sr (i)	µg L ⁻¹	2,73	3,78	2,93	0,637	11,7	1,53	2,02	1,87	0,25	8,51
Mo (iii)	µg L ⁻¹	1,42	1,75	1,47	0,138	7,20	14,2	16,4	8,61	4,76	34,6
V (iii)	µg L ⁻¹	0,854	1,050	0,730	0,197	2,88	3,42	3,63	2,10	1,11	11,2
Cs (ii)	ng L ⁻¹	70,1	80,0	52,5	17,6	278	3,82	5,13	3,86	0,20	18,0
U (iii)	ng L ⁻¹	20,3	26,4	13,2	<5,17	56,7	1,42	-	-	-	7,40
Cd (i)	µg L ⁻¹	<0,0904	-	-	<0,0904	1,05	-	-	-	-	11,8
Ba (i)	µg L ⁻¹	<3,40	-	-	<3,40	3,84	-	-	-	-	0,06
Ce (i)	ng L ⁻¹	<15,3	-	-	<15,3	59,1	-	-	-	-	0,22
La (i)	ng L ⁻¹	<9,87	-	-	<9,87	23,2	-	-	-	-	0,24
Dy (i)	ng L ⁻¹	<6,99	-	-	<6,99	15,1	-	-	-	-	0,94
Gd (i)	ng L ⁻¹	<4,35	-	-	<4,35	13,3	-	-	-	-	2,08
Eu (i)	ng L ⁻¹	<1,86	-	-	<1,86	12,7	-	-	-	-	2,35
Er (i)	ng L ⁻¹	<2,21	-	-	<2,21	9,59	-	-	-	-	1,29
Pr (i)	ng L ⁻¹	<6,74	-	-	<6,74	9,08	-	-	-	-	0,34
Yb (i)	ng L ⁻¹	<4,29	-	-	<4,29	6,04	-	-	-	-	0,93
Tb (i)	ng L ⁻¹	<2,34	-	-	<2,34	3,14	-	-	-	-	0,24
Ho (i)	ng L ⁻¹	<1,17	-	-	<1,17	2,97	-	-	-	-	1,06
Lu (i)	ng L ⁻¹	<1,36	-	-	<1,36	1,59	-	-	-	-	1,50
Tm (i)	ng L ⁻¹	<2,05	-	-	<2,05	<2,05	-	-	-	-	-
Nd (i)	ng L ⁻¹	<46,3	-	-	<46,3	<46,3	-	-	-	-	-
Sm (i)	ng L ⁻¹	<18,5	-	-	<18,5	<18,5	-	-	-	-	-

Mivel hazánkhoz közeli, horvát propoliszokról van szó, így nem valószínű, hogy az átoldódás mértékében tapasztalt nagymértékű különbség a földrajzi régióból vagy a növényzet különbségéből adódna. Az eltérések magyarázata lehet, hogy Cvek et al. (2008) az extrakciót mágneses keverő segítségével végezték, igaz mindössze 30 percen keresztül. Esetleg különbség lehet még a darálás, aprítás minőségében az általam beállított kísérlethez képest.

A propoliszon kívül más jellegű minták esetében is találkozhatunk az átviteli hatások meghatározásával. Malandrino et al. (2015) rügyek esetében víz, etanol és glicerin keverékét használták extrahálószerként, míg egyéb növényi részeket víz és etanol keverékével extraháltak. Azt tapasztalták, hogy a rügyekben – melyek hasonlítanak a propoliszhoz – az átviteli hatások sorrendje a következő: $Ca < Mn < P < Mg < K < Na$. A propoliszokban észlelt eredményekkel összevetve nagy hasonlóságot tapasztaltam. Esetükben a Ca és a Mn legmagasabb átviteli hatások 22,9%, illetve 49,7% volt, míg mindkét elem vonatkozásában volt olyan minta, melynek extraktumában nem volt jelen az adott elem mérhető koncentrációban. A további elemek közül a P 26,8–75,8%, a Mg 27,4–61,5%, a K pedig 59,8–88,4% átviteli hatásokkal rendelkezett a rügyekből készült kivonatokban. A Na-ra vonatkozó értékeket nem közölték. Az egyéb növényi részek esetében jellemzően alacsonyabb volt a TC a rügyekhez viszonyítva, illetve a sorrend a következőképpen alakult: $Ca < Mn < Mg < P < K < Na$.

A teák tekintetében az átviteli hatások egy sokkal jobban tanulmányozott területet jelent a növény és a forrázat között. Ugyanakkor a teáknál egy vizes kivonatról beszélhetünk, így nem hasonlítható össze teljes mértékben a 80% (v/v)-os etanollal készült propolisz tinktúrákkal. A jobb összehasonlíthatóság miatt a vizes kivonatokban tapasztalt átviteli hatásokat vettem figyelembe. Szymczycha-Madeja et al. (2012) munkájában közöltek szerint magas az átoldódás mértéke (>55%) pl. a Co, Cs, K, Na, Ni, Rb és Tl elemeknek. Közepes az extrahálhatósága (20–55%) pl. az Al, B, Cu, Cr, Mg, Mn, P és Zn elemeknek. Ugyanakkor alacsony (<20%) a Ba, Ca, Fe, Mo, Sn, Sr, V, Y, Zr és a lantanoidák kioldódása a teákból. Néhány elem, mint pl. az As, Be, Bi, Cd, Cr, Pb, Se, S, Th, U és a W nagyon gyengén oldódik ki, emiatt sokszor nem mérhető a tea forrázatban.

A fent említett csoportosítás nagy hasonlóságot mutat a nyers propolisz és a vizes kivonata között tapasztalt átviteli hatásokkal, főleg ha figyelembe vesszük az extrakciós idő és az extrahálószer összetétele alapján felállított csoportokat is. Az általam (ii) csoportba sorolt elemek oldhatósága magas, mind a vizes, mind az etanolos közegben.

Ezek az elemek Szymczycha-Madeja et al. (2012) csoportosítása szerint többségében a jól és közepesen jól extrahálható elemek csoportjába tartoznak. A teákból rosszul extrahálódó elemek között főleg az általam (i) és (iii) csoportba sorolt elemeket találjuk. A (iii) csoport elemei a propoliszokból a vizes közegbe oldódnak ki a legalacsonyabb mértékben és az átviteli hatásfokuk is alacsony. Az (i) csoportba sorolt elemek pedig ugyan a vizes közegbe oldódnak ki a legjobban, de az átviteli hatásfok sok esetben így is alacsony volt. Viszont az említett hasonlóságokkal szemben a teákban rosszabb a S oldhatósága a propolisz tinktúrához viszonyítva, továbbá a nyers propoliszból a vizes közegbe a Ca is magas átviteli hatásfokkal rendelkezett (1 hónap után 61,6%), a teákban ugyanakkor ez jellemzően alacsonyabb. A teában közepesen oldódó elemek közt találjuk az Al, Cu és Cr elemeket, melyek a tinktúra vizes kivonatába 10%, vagy az alatti átviteli hatásfokkal kerültek át, az extrahálószer összetételének vizsgálata során.

5.4.3. A tinktúrák elemösszetétele

A tinktúrákban mért elemkoncentrációk statisztikai jellemzőit a 22. táblázat foglalja össze. A 27 mintában mért elemkoncentrációk alapján elmondható, hogy továbbra is az első helyet foglalja el a K, mind az átlag ($55,6 \pm 19,5 \text{ mg L}^{-1}$), mind a medián ($50,6 \text{ mg L}^{-1}$) tekintetében. Ezt a P, Mg és S követi, $12,4 \pm 7,0$, $5,30 \pm 2,10$, illetve $5,00 \pm 2,37 \text{ mg L}^{-1}$ átlagos koncentrációval. Sorban a Ca, Na és Zn következett, a medián és az átlag szerint egyaránt. Az ezt követő elemeknél előfordult, hogy legalább egy tinktúrában kimutatási határ alatti koncentrációban volt jelen az adott elem, így ez esetben az átlagot, illetve a szórást nem lehetett számolni. Továbbá a nyers mintákhoz hasonlóan, a nem normál eloszlás szintén megfigyelhető volt, ami befolyásolhatta a sorrendet. Emiatt célszerű volt ebben az esetben is az átlag helyett a medián szerint sorba rendezni az elemeket.

A medián koncentrációját tekintve $0,1\text{--}1 \text{ mg L}^{-1}$ nagyságrendben mindössze a Fe és a B található. Továbbá $1\text{--}100 \text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ közé tehető a Mn, Cu, Al, Ni, Cr, Co, Sr és a Mo mediánja. A lantanoidák koncentrációja legalább a minták felében kimutatási határ alá került, emiatt a mediánról is ugyanezt tudtam megállapítani, de a legnagyobb koncentráció tekintetében sem érték el a 60 ng L^{-1} értéket. A 27 tinktúrában mért elemkoncentrációk mediánja alapján a következő sorrend állapítható meg:

$\text{K} > \text{P} > \text{Mg} > \text{S} > \text{Ca} > \text{Na} > \text{Zn} > \text{Fe} > \text{B} > \text{Mn} > \text{Cu} > \text{Al} > \text{Ni} > \text{Cr} > \text{Co} > \text{Sr} > \text{Mo} > \text{V} > \text{Cs} > \text{U}$.

Más kutatásokban eltérő módot választottak a propolisz tinktúrák elkészítésére, vagy nem ismerjük annak folyamatát, mégis igyekeztem összevetni az általuk kapott értékeket az eredményeimmel. Cvek et al. (2008) publikációjában közöltekkel hasonlítva

(3. táblázat) általánosan az figyelhető meg, hogy az általam készített tinktúrákban mért értékek alacsonyabbak. A propolisz készítési módszer nem indokolja feltétlenül ezt a különbséget, hiszen mindkettőnk esetében a nyers propolisz és a keletkező tinktúra aránya hasonló volt. Ugyanakkor Cvek et al. (2008) mágneses keverőt használtak a 30 perces extrakció során. Az eredményeket összevetve kiemelendő, hogy az általam készített tinktúrákban jóval alacsonyabb a Ca, Al és Ba koncentrációja, viszont a Mg magasabb koncentrációban fordul elő. A Ca és Ba elemeket az (i) csoportba soroltam, az Al pedig szintén ehhez a csoporthoz állt legközelebb. Az (i) csoportba sorolt elemek a nyers propoliszhoz képest a 80% (v/v)-os etanol koncentrációjú tinktúrákban nagyon alacsony koncentrációban voltak jelen az eredményeim alapján. Ugyanakkor az általuk alkalmazott körülmények között nem ez volt a jellemző az említett elemekre. González-Martín et al. (2018) (4. táblázat) vizsgálataival összevetve nagyon hasonló Cu koncentrációkat kaptam. A Zn jellemzően magasabb koncentrációban volt a mintáimban, a legmagasabb érték kb. 20-szorosa a kereskedelmi forgalomban kapható készítményekhez viszonyítva. A Ni elemre vonatkozó eredményeim tekintetében szélesebb a mért tartomány, a minimum érték alacsonyabb, a maximum érték magasabb volt, mint a González-Martín et al. (2018) munkájában közöltek. Ezzel szemben a mintáimban a Cr legkisebb és legnagyobb koncentrációja is kb. 1 nagyságrenddel alacsonyabb.

5.4.4. A nyers propolisz elemösszetételének meghatározása a tinktúra alapján

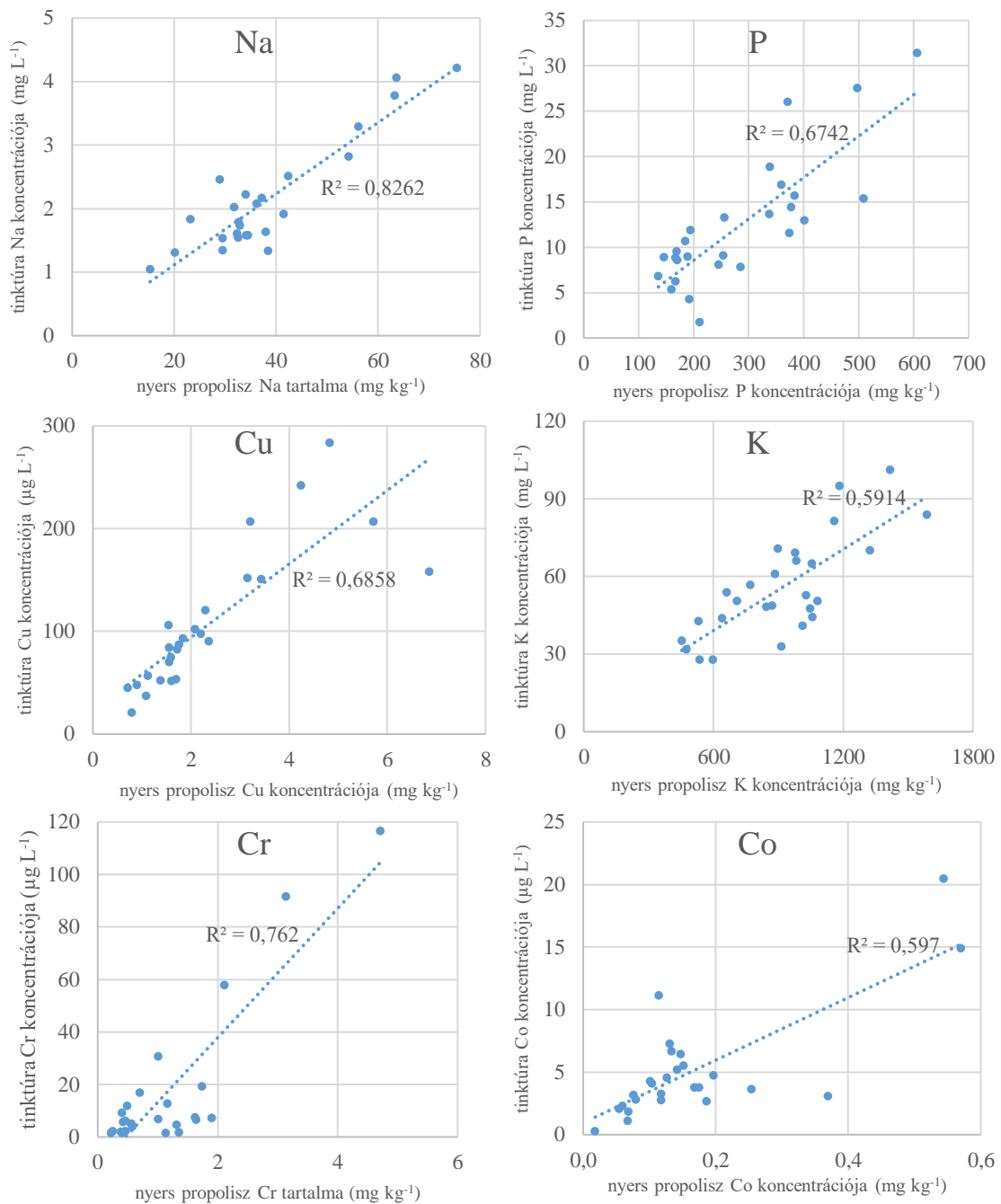
Megvizsgáltam annak a lehetőségét, hogy a tinktúra összetétele alapján lehet-e következtetni az eredeti nyers propolisz elemösszetételére. Ehhez elsőként megvizsgáltam, hogy milyen a korrelációs kapcsolat a tinktúra és a hozzá kapcsolódó eredeti nyers minta elemkoncentrációja között. Ugyanazzal az elkészítési móddal elkészült tinktúrákat ellenőriztem (5,0 mL, 80% (v/v)-os etanoltartalmú extrahálószer, 1 hét extrakciós idő). Ebben az esetben nem vettem figyelembe, hogy az eltérő elkészítési mód befolyásolja a tinktúra elemösszetételét. A Pearson-féle korrelációs kapcsolat eredményét a 23. táblázat foglalja össze.

23. táblázat: A nyers propolisz és a belőle készült tinktúra (5 mL, 80% (v/v) etanoltartalmú extrahálószer, 1 hét extrakciós idő) elemkoncentrációja közötti Pearson-féle korrelációs kapcsolat. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

	Pearson-féle korreláció	szignifikanciaszint	mintaszám
Al	0,288	0,163	25
B	0,513**	0,007	26
Ca	-0,056	0,781	27
Cu	0,827**	<0,0005	26
Fe	0,630**	0,001	25
K	0,769**	<0,0005	27
Mg	0,342	0,081	27
Mn	0,462*	0,015	27
Na	0,909**	<0,0005	25
P	0,821**	<0,0005	27
S	0,834**	<0,0005	27
Sr	-0,016	0,937	27
Zn	0,339	0,098	26
V	0,676**	<0,0005	27
Cr	0,873**	<0,0005	26
Co	0,774**	<0,0005	26
Ni	0,571**	0,002	26
Mo	0,680**	<0,0005	26
Cs	-0,093	0,644	27
U	0,410	0,065	21

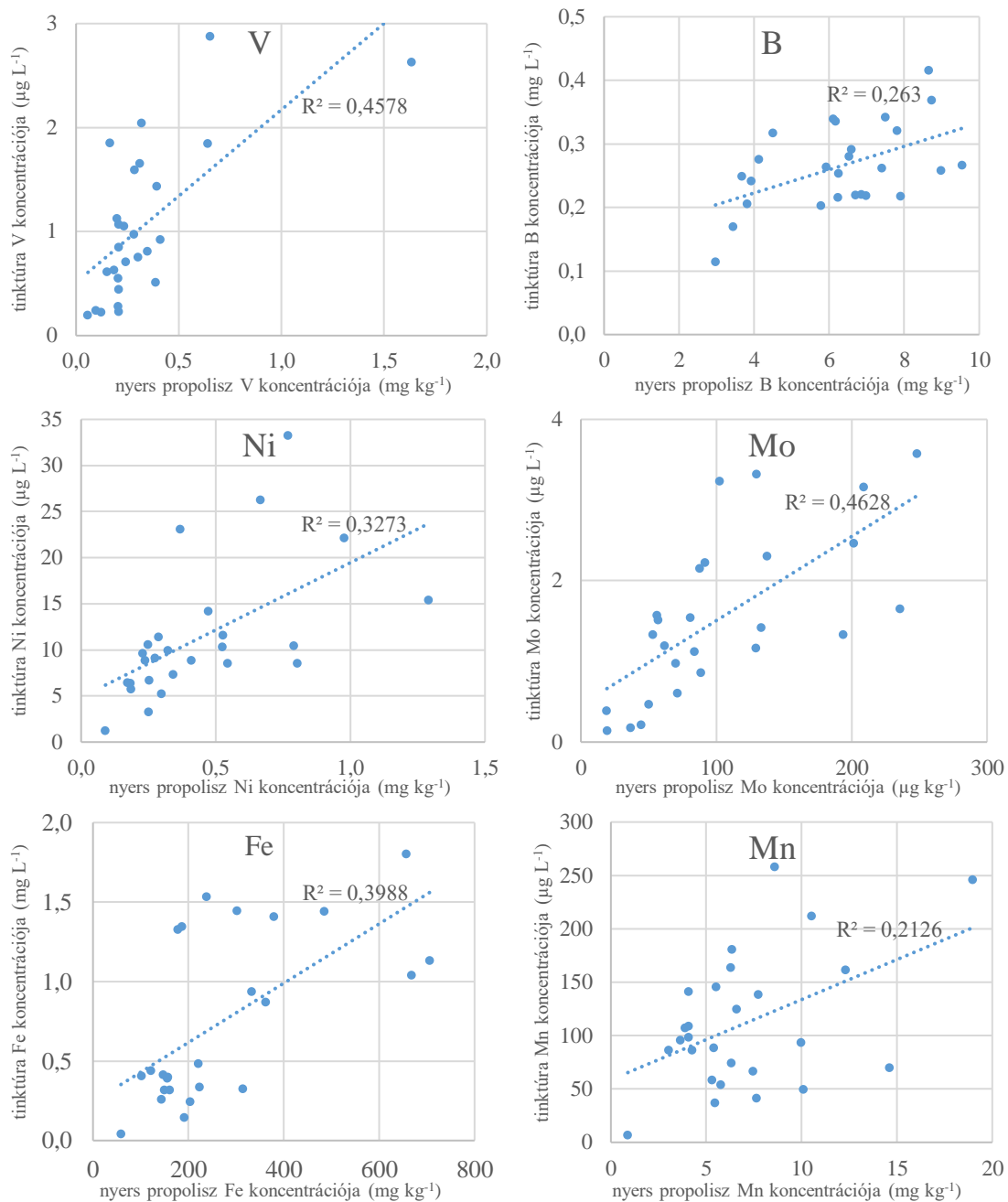
A korrelációs kapcsolatot csak azoknál az elemeknél értékeltem részletesebben, melyeknél a 27 minta legalább felében mérhető koncentrációban volt jelen az említett elem. Ennek megfelelően kihagytam az értékelésből a ritkaföldfémeket, illetve a Ba és Cd elemeket. Néhány elem esetében (Al, B, Cu, Na, Co, Ni, Zn) 1 vagy 2 kiugró eredményt tartalmazott a halmaz, ezeket kihagytam a korrelációs analízisből.

Az figyelhető meg, hogy magas a Pearson-féle korrelációs együttható, illetve szignifikáns a korrelációs kapcsolat a B, Cu, K, Na, P, S, V, Cr, Co, Ni, Mo ($p < 0,01$), valamint a Fe és Mn ($p < 0,05$) elemek esetében a nyers propolisz és a tinktúra között. A 28. ábrán mutatom be a Na, P, Cu és a K tekintetében az összefüggést, melyeknél erős kapcsolat áll fenn a nyers és az extrahált propolisz elemkoncentrációja között.



28. ábra: A propolisz tinktúra Na, P, Cu, K, Cr és Co koncentrációja (5 mL, 80% (v/v) etanoltartalmú extrahálószer, 1 hét extrakciós idő) a nyers propoliszban mért elemkoncentráció függvényében ábrázolva

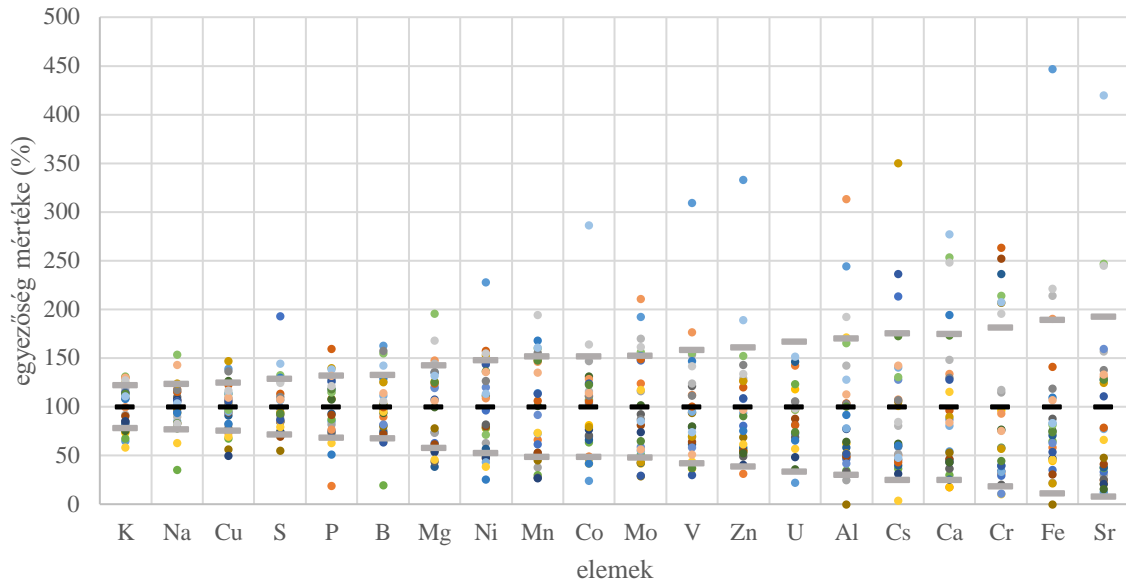
Az előbb említett elemek esetében az R² értéke minden esetben 0,6 körüli, vagy azt meghaladó. Ugyanakkor például a Cr vagy a Co esetében a magas R² értéke elsősorban kiugró eredményekkel magyarázható. A 29. ábra a további elemeket mutatja be, melyeknél magas a Pearson-féle korrelációs koefficiens, de alacsonyabb az R² értéke a nyers és az extrahált propolisz között.



29. ábra: A propolisz tinktúrában a V, B, Ni, Mo, Fe és Mn koncentrációja (5 mL, 80% (v/v) etanoltartalmú extrahálószer, 1 hét extrakciós idő) a nyers propoliszban mért elemkoncentráció függvényében ábrázolva

Kiszámoltam, hogy az átlagos átviteli hatásfok segítségével a tinktúra elemösszetétele alapján mennyire pontosan lehetne meghatározni a nyers propolisz elemösszetételét. Ennél a számításnál szintén nem vettem figyelembe az eltérő elkészítési módok hatását, hiszen mindegyik tinktúra ugyanazzal az elkészítési móddal (5 mL, 80% (v/v) etanoltartalmú extrahálószer, 1 hét extrakciós idő) készült. A 30. ábrán a szórás mértékével növekvő sorrendben szerepelnek azok az elemek, melyek a tinktúrák több

mint felében mérhető koncentrációban voltak jelen. Fekete téglalappal az átlagot, szürkével a szórást jelöltem.



30. ábra: A nyers propolisz elemösszetételének becslése a tinktúra (5 mL, 80% (v/v) etanoltartalmú extrahálószer, 1 hét extrakciós idő) elemtartalma alapján

Mivel a 27 propolisz mintában tapasztalt átlagos átviteli hatásfok és ugyanazon 27 tinktúrák elemösszetétele alapján számoltam ki a nyers propoliszok becsült elemösszetételét, ezért a tényleges koncentrációjukhoz képest a becsült egyezés mértékének átlaga minden esetben 100%. A hiba mértékét az ettől való eltéréssel (a szórással) lehetett leginkább jellemezni. A legpontosabban, vagyis a legkisebb mértékű hibával a K koncentrációjára lehet következtetni, ahol a hiba szórásának mértéke 22,2%. Ráadásul 58,4–131,4% közötti egyezéssel, azaz a tinktúra elemösszetétele ismeretében legfeljebb 41,6%-kal alá, illetve 31,4%-kal felé becsülve meghatározható a nyers propolisz összetétele, abban az esetben, ha ugyanolyan körülmények között lett elkészítve a tinktúra, mint az általam előállítottak. A Na és a Cu elemeknél a becslés hatékonyságának szórása $\pm 23,5$ és $\pm 24,5\%$ lenne. 25–40% közötti szórással jósolható a S, P és a B koncentrációja a nyers propoliszban. Viszonylag jelentős, 40–60% között lenne a hiba szórásának mértéke a Mg, Ni, Mn, Co, Mo és V elemeknél. A többi elemnél ennél magasabb a hiba nagysága.

6. KÖVETKEZTETÉSEK

Fontosnak tartottam a munkámat azzal kezdeni, hogy **találjak egy olyan módszert, amellyel gyorsítható a mintaelőkészítés, valamint megállapítsam, hogy az általam alkalmazott mintaelőkészítés és a műszeres mérés alkalmas-e az elemtartalmi meghatározás elvégzésére.** Ezért megállapítottam a kis mennyiségű minta előkészítésére alkalmas „vessel-inside-vessel” mikrohullámú roncsolásos módszerrel előkészített, valamint ICP-OES és ICP-MS készülékekkel végzett elemtartalmi meghatározás egyes jellemzőit. Azt tapasztaltam, hogy a kimutatási határ szempontjából a nyers propoliszok elemtartalmának meghatározására alkalmasak a fenti módszerek, ugyanis a La kivételével 35 elem koncentrációját meg tudtam határozni minden mintában. A tinktúrák előkészítésekor azt állapítottam meg, hogy a kedvezőbb hígítási faktor ellenére némely elem esetében a kimutatási határ alatt maradt a koncentrációjuk. Ugyanakkor a tinktúrakészítési módtól függően az elemek többségének mérésére ez is megfelelő, de néhány elem, elsősorban a lantanoidák kivételt képeznek. Egy teflonedényen belül elhelyezett kvarccsövek között nem tapasztaltam keresztszennyezést, ezért akár független minták is előkészíthetők egymás mellett.

A mintaelőkészítési és mérési módszer pontosságát spike-visszaméréssel, körvizsgálati minta, illetve hitelesített referenciaminta elemzésével is ellenőriztem. Mindhárom ellenőrzési módszer azt igazolta, hogy a mintaelőkészítés és a mérés pontossága együttesen megfelelő. Nem tapasztaltam negatív hatást a pontosságra a tinktúra kíméletes bepárlása során. A módszer megismételhetősége jellemzően kedvezőbb az ICP-OES-sel meghatározott elemek esetében, míg az ICP-MS-sel mérhető mikro- és nyomelemek tekintetében magasabb a relatív szórás, de az RSD átlagos értéke így is 15% alatti minden elemnél. A reprodukálhatóságot két eltérő alkalommal elvégzett mérés során ellenőriztem. Ezek a mérések azt igazolták, hogy a mérés reprodukálhatósága elfogadható. A Tm esetében tapasztalt kis mértékű eltérés oka a mintában lévő kis koncentrációja és a magas (500-szoros) hígítási faktor lehetett, ami azt eredményezte, hogy a mért roncsolatban a koncentrációja mindössze néhány ng L⁻¹ volt. Szükségesnek tartottam ellenőrizni a rendszeralkalmasságot is, mert akár 8-10 órás mérési sorozatokat is végeztem. Ezzel ellenőrizhetővé vált, hogy a mérés során a készülék megbízhatóan működik-e. A több mint ezer roncsolat mérése során mindössze kb. 25 mintát kellett megismételni a nem megfelelő mértékű QC oldat visszamérése miatt. Ezzel biztosíthattam az eredmények megbízhatóságát.

Összességében a módszer alkalmas kis mennyiségű minták előkészítésére, mivel 0,1000 g nyers propolisz vagy 2 mL tinktúra készíthető elő vele az elemtartalom meghatározásához. Ehhez 2 mL HNO₃ és 0,6 mL H₂O₂ szükséges. A kis mennyiségű vegyszerfelhasználás pedig kedvező a „zöld kémia” elérése szempontjából, egyúttal a kedvezőbb kimutatási határok elérését is szolgálja. A kvarccsöveket egyszerűen és gyorsan lehetett tisztítani, kellő hatékonysággal. A módszert eredményesen tudtam alkalmazni a mintaátbocsátási képesség javítására, mivel egy teflonedénybe három kvarccső is helyezhető, így az egyszerre előkészíthető minták száma akár háromszorosára növelhető. A tinktúrák esetében szükséges volt beiktatni egy bepárlást azért, hogy eltávolítsam az extrahálószerként használt etanolt. Ugyanis az etanol és a salétromsav heves reakcióba lépett egymással, így nem lett volna biztonságos az előkészítés. A bepárlással együtt a mintaelőkészítésnek nagyobb volt az időigénye, viszont ezt követően a módszer előnyei megmaradtak. Ez a módszer ugyanakkor nemcsak propoliszok előkészítésére lehet alkalmas, hanem más növényi vagy állati eredetű minták roncsolására is. Alkalmazható lehet pl. klinikai jellegű minták előkészítésére, melyeknél gyakran fennáll az a probléma, hogy korlátozott a rendelkezésre álló mintamennyiség.

Arra a kérdésre, hogy **hogyan alakul a hazai nyers propoliszok elemösszetétele**, 252 hazai nyers propolisz minta vizsgálata után megállapítottam, hogy az elemösszetételüket széles tartomány jellemzi. Ugyanazon az elemen belül a legkisebb és a legnagyobb érték között minimum 9,0-szeres különbséget figyeltem meg, de ez elérheti akár az 1638-szoros különbséget is. Ezt elsősorban a kiugróan magas eredmények okozták, pl. a Zn vagy a Ba elemek esetében. Azt is megfigyeltem, hogy az eloszlásuk nem követi a normál eloszlást, melyre a hisztogram, az átlag és a medián különbsége, illetve a ferdeség és a csúcsosság értéke is rávilágított. Az elemek többségéről megállapítottam, hogy erősen jobbra ferde és erősen csúcsos eloszlású. A meghatározott elemekre nem lehet egy általános, minden minta esetében fennálló sorrendet megadni. Ugyanakkor az elemek sorrendjét leginkább a medián szerint sorba rendezve tudtam leírni, mely a következő:

K>Ca>S>P>Fe>Mg>Al>Zn>Na>Ba>B>Mn>Sr>Cu>Cr>Ni>V>Ce>Co>La>Nd>Mo>
Cd>Pr>Gd>Sm>Cs>Dy>U>Eu>Er>Yb>Tb>Ho>Tm>Lu.

A kutatás kezdetén célul tűztem ki azt is, hogy **létrehozzak egy adatbázist a hazai nyers propoliszok elemösszetételéről**. Összesen 252 nyers propoliszt vizsgáltam, melyek álló méhészetekből származtak, valamint a mintavételi helyek nagyjából

egyenletesen fedik le az ország területét. Ez alapján tehát reprezentatív módon tükrözik a hazai propoliszok tulajdonságait, azon belül is az elemösszetételét. Összesen 36 elem koncentrációjára vonatkozó eredményeket írtam le elsőként a hazai nyers propoliszokra, melyeket egy elem kivételével mind a kimutatási határ fölötti koncentrációban tudtam meghatározni. A mintahalmaz mediánját, átlagát, szórását, minimumát, illetve maximumát a vizsgált elemekre vonatkozóan a *13. táblázatban* foglaltam össze. Ez az adatbázis nemzetközi szinten is egyedülálló, hiszen a szakirodalomban nem található olyan publikáció, melynek adatbázisa ennyi mintából épül fel, és 36 elemre vonatkozóan tartalmaz eredményeket az adott ország nyers propoliszairól, mindezt reprezentatív módon.

Az eredményeimet **összevetve különböző országokból származó, más kutatásokban publikált nyers propoliszok elemösszetételével**, elmondható, hogy többségében hasonló nagyságrendbe eső koncentráció eredményeket kaptam az elemekre. Sok esetben tapasztaltam alacsonyabb értékeket a dél-spanyolországi, vagy kínai mintákkal összehasonlítva, pl. a K, Ca, Fe vagy a Mg tekintetében. Ez magyarázható lehet az eltérő botanikai eredettel, ugyanakkor szintén eltérő botanikai összetételű területekről származó (pl. török vagy mongol) propoliszok esetében nem tapasztaltam ilyen mértékű különbséget. Az argentin mintákkal összevetve az eredményeimet, a mikroelemek koncentrációjára vonatkozóan ugyancsak hasonlóságot tapasztaltam, de a mért lantanoidák 2-3 nagyságrenddel alacsonyabb koncentrációban fordultak elő Cantarelli et al. (2011) kutatásában. A drasztikus eltérés adódhat az argentin és a magyar botanikai- vagy talajviszonyok különbségéből. Esetleg a két mérés technika közötti különbség is okozhatja, mivel neutronaktivációs analízissel (NAA) végezték a meghatározást, szemben az általam használt ICP-MS-sel. Ennek ellentmond, hogy ők is és én is ellenőriztük a módszer pontosságát és megfelelőnek találtuk. Ugyanakkor feltételezhetjük azt is, hogy a részükről mértékegység elírásról lehetett szó, és az általuk közölt értékek valójában mg kg^{-1} egységben vannak kifejezve. Ebben az esetben jó lenne az egyezés az általuk közölt és az általam mért értékek között. Más kutatást nem találtam, melyben meghatározták volna a propoliszokban az egyes lantanoidák koncentrációját. Az eredményeket értékelve azt is megfigyeltem, hogy pl. a dél-spanyol, kínai vagy horvát propoliszokban általában a Ca fordul elő a legnagyobb koncentrációban, míg a hazai mintákban a K koncentrációja megelőzi a Ca-ét.

Vizsgáltam azt is, hogy **megkülönböztethetőek-e az ország régióiból származó nyers propoliszok az elemtartalmi összetételük alapján, valamint melyek azok az elemek, amelyek az elkülönítés alapját képezhetik.** Ehhez az ország különböző régióiból származó nyers propolisz minták eredetének azonosítását a hét hazai régió szerint csoportosítva végeztem. Ahhoz, hogy össze tudjam hasonlítani az eredményeket, normalizáltam az elemkoncentrációk eloszlását, melyet logaritmizált koncentráció értékekkel tudtam megtenni. Mivel továbbra sem mutatott normál eloszlást, ezért kizártam az értékelésből a Cd, Cr, Cu, Eu, Mo, Ni, U, V és Zn elemeket, illetve a La-t, mivel a La a minták egy részében kimutatási határ alá került. Elsőként az egytényezős varianciaanalízist (ANOVA) elvégezve azt tapasztaltam, hogy a nyugat-magyarországi régió különbözik leginkább a közép-dunántúli, észak-alföldi, dél-alföldi, illetve dél-dunántúli régióktól. Az ANOVA hátránya, hogy csak egy-egy tényezőt tud összehasonlítani egyszerre. Meglátásom szerint kemometriai módszerekkel hatékonyabban lehet elvégezni a csoportba tartozás becslését, több elem eredményeit felhasználva, ezért a főkomponens analízist, illetve a lineáris diszkriminancia analízist alkalmaztam.

Meg kellett állapítanom, hogy a főkomponens analízis (PCA) nem biztosított kellően hatékony csoportba rendezést. A főkomponenseket ábrázolva nem tudtam megfigyelni összefüggést a földrajzi eredettel kapcsolatban, az egyes régiókhoz tartozó pontok nem alkottak külön csoportokat a diagramon, hanem más régiókkal keveredtek. Ez valószínűleg azért lehetett így, mert a PCA a független változók között fennálló összefüggés feltárására alkalmas eljárás, és elsősorban nem osztályozásra használható kemometriai módszer. Emiatt a főkomponens analízis alkalmazását elvettem. A lineáris diszkriminancia analízist (LDA) elemezve azt figyeltem meg, hogy a Ba és a Co nagyon alacsony mértékben járul hozzá a diszkrimináló függvényekhez, ezért ezeket nem használtam. Így végül az Al, B, Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, S, Sr, Cs, Ce, Pr, Nd, Sm, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb és Lu elemeket alkalmaztam a csoportosításhoz. A lista első fele – a propoliszokra jellemző koncentráció tartományban – ICP-OES technikával jól mérhető elemeket tartalmaz, míg a második felében lévő elemek már csak ICP-MS készülékkel határozhatóak meg, az alacsony koncentrációjuk miatt. Tehát mindkét mérés technika alkalmazása indokolt a földrajzi eredet meghatározásához. A „loading plot” alapján megfigyeltem, hogy az észak-alföldi régióból származó propoliszok különülnek el a leghatékonyabban a többi régió propoliszaitól, viszont a további régiókból származó propoliszok elkülönülése nem teljes mértékű. Az kissé

ellentmondásos volt, hogy egymástól távolabb eső területekről származó propoliszok között figyelhető meg hasonlóság az elemösszetétel alapján, egymáshoz földrajzilag közelebb eső régiók propoliszai pedig távolabb helyezkednek el egymástól a „loading plot” ábrázolása szerint. A klasszifikációs táblázat „eredeti” csoportosítása azt igazolta, hogy az észak-alföldi régióból származó minták elkülönítése 96,3% megbízhatósággal lehetséges. A többi csoport elkülöníthetősége 64,7–80,0% között alakult. A csoportosítást keresztvalidálással ellenőriztem, ami azt mutatta, hogy ismeretlen mintaként az észak-alföldi régióhoz tartozó minták helyes osztályba sorolása 74,1%-ra csökkent, ami még mindig viszonylag magas. Emellett továbbra sem sorol hibásan ebbe a csoportba nagy arányban más régiókhoz tartozó mintákat. A további régiókból származó minták osztályozásának hatékonysága 44,7–72,0% között alakult a keresztvalidálás alapján.

Összességében az LDA eredeti osztályozási módszere szerint a minták 75,4%-át tudta a csoportosítási modell megfelelően osztályozni, míg a keresztvalidálás alapján ez az arány 60,3%-ra csökkent. Ha véletlenszerűen szeretnénk a mintákat a régiókba sorolni, akkor 14,3% valószínűséggel találnánk el a helyes eredetét a mintáknak. Ezzel szemben a modell lényegesen jobb hatékonysággal bír az eredetazonosítás tekintetében. Ugyanakkor teljes mértékű elkülönítést egyik régió nyers propoliszai esetében sem tudtam elérni az elemtartalmi eredmények alapján. Leghatékonyabban az észak-alföldről származó minták csoportba sorolása végezhető el. A nem teljes mértékű csoportosítási hatékonyság valószínűleg azzal magyarázható, hogy kis földrajzi különbségek vannak az egyes régiók között, illetve a klimatikus és botanikai viszonyok nem különböznek akkora mértékben az országon belül, hogy ez egyértelműen megmutatkozzon a nyers propoliszok elemösszetételében. Cantarelli et al. (2011), illetve Gong et al. (2012) szintén elemtartalmi összetétel alapján végezték a propoliszok földrajzi eredetének azonosítását argentin és kínai mintákon. Ezekben a kutatásokban az eltérő osztályokként megjelölt régiók akár Magyarország területének többszörösét is jelentették, így nagyobb esély volt rá, hogy különbséget mutassanak ki az összetételükben, jobb hatékonyságot érjenek el. Ugyanakkor az általam használt csoportosítási modell tovább javítható pl. a flavonoid összetétel vizsgálatával (Saftić et al., 2019). Továbbá az elemösszetétel kombinálható akár bizonyos elemek izotóparányának különbségével, mely a földrajzi területtel vagy a forrásául szolgáló növényvel lehet összefüggésben. Ezek lehetnek könnyű (pl. δD , $\delta^{13}C$) (Pilgrim et al., 2010) vagy nehéz elemek izotóparányai (pl. $^{87}Sr/^{86}Sr$) (Bong et al., 2012) egyaránt.

Választ kerestem arra a kérdésre, hogy **hogyan befolyásolja a tinktúra elemösszetételét a tinktúrakészítés során az extrakciós idő, a kivonószer etanol-koncentrációja, illetve a kivonószer aránya a nyers propoliszhoz képest.** Egy hazai propoliszokból kevert nyers minta felhasználásával vizsgáltam az extrahálási idő (1 óra, 1 nap, 1 hét, 1 hónap), az extrakcióhoz használt kivonószer etanol koncentrációjának (0, 50, 80 és 100% (v/v)), illetve a térfogatának (2,5 mL, 5,0 mL és 10 mL) a hatását. Az idő és az etanol koncentráció tekintetében azt tapasztaltam, hogy az elemeket 3 csoportba lehetett sorolni a viselkedésük alapján. Az **(i) csoportba** sorolt elemekről azt állapítottam meg, hogy vizes közegben drasztikusan nagyobb mértékben oldódtak ki, mint az etanolt tartalmazó kivonószerekben. Ez sok esetben azt eredményezte, hogy a 100 vagy akár a 80% (v/v)-os etanollal extrahálva a kimutatási határ alá került a koncentrációjuk. Ugyanakkor előfordult az is, hogy az 50 vagy a 0% (v/v)-os etanoltartalmú kivonatokban sem volt jelen mérhető koncentrációban az adott elem. Ide soroltam a Ba, Ca, Sr, Cd, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb és a Lu elemeket. A Ca, Sr és a Ba az alkáliföldfémek közé tartozik, ami magyarázat lehet a hasonló viselkedésükre. Viszont annak ellenére, hogy a Mg is alkáliföldfém, nem az (i) csoportba sorolható. A Cd kivételével a további elemek a lantanoidák közé tartoznak, ami szintén összefügghet a hasonló viselkedésükkel az extrakció során. A **(ii) csoport** elemei, azaz a B, K, Mg, Na, P, S, Zn, Mn, Co és a Cs esetében azt tapasztaltam, hogy 1 hónapot követően szintén a vizes kivonatban voltak jelen a legmagasabb koncentrációban, emellett a kivonószer etanol koncentrációjának növelésével csökkent a koncentrációjuk, viszont ez nem volt olyan nagymértékű vagy tendenciális, mint az (i) csoport esetében. Előfordult, hogy szignifikáns különbséget sem tudtam kimutatni 1 hónap után a 0 és 50% (v/v)-os etanol koncentrációjú kivonatok közt. Tehát ezen elemek koncentrációját elsősorban a 0 és 50% (v/v)-os etanollal végzett extrakció befolyásolja kedvezően, a 80% (v/v)-os, de főleg a 100% (v/v)-os etanollal kivitelezett extrahálás hatására alacsonyabb a kioldódásuk. Az ide tartozó elemekről megállapítható, hogy a Cs kivételével esszenciálisak az emberi szervezet számára. A **(iii) csoportba** sorolt elemek, azaz a Cu, Fe, V, Cr, Mo és az U közös tulajdonsága, hogy a vizes közegben oldódtak a legrosszabbul, ugyanakkor nem minden esetben nőtt egyenes arányban a kioldódásuk az etanol koncentrációjának növelésével. Többségében az volt jellemző rájuk, hogy a 80% (v/v)-os etanolban volt a legmagasabb mértékű a kioldódásuk, de az áztatási idő függvényében néhány esetben nem tudtam szignifikáns különbséget kimutatni az 50, 80 és 100% (v/v) etanol koncentrációjú kivonatok elemkoncentrációi között. Az Al és a Ni nem felelt meg teljes

mértékben az említett csoportok kritériumainak, de az Al az (i), a Ni a (ii) csoport tulajdonságaihoz állt a legközelebb.

Az extrakciós idő tekintetében, főleg a vizes kivonatokban jellemzően növekedést figyeltem meg, ami az 1 óra és az 1 hónap időtartamú extrahálás között volt a legjelentősebb, de az 1 hetes és az 1 hónapos extrahálással készült tinktúrákat összehasonlítva a növekedés jellemzően alacsony volt. Az etanoltartalmú kivonatok tekintve a kis koncentrációjú elemek koncentrációjában gyakran nem figyeltem meg szignifikáns vagy jelentős változást az idő függvényében. Elsősorban a lantanoidák tekintetében nem is volt lehetőségem ennek megállapítására, mert kimutatási határ alá kerültek az említett kivonószerekkel készült tinktúrákban. Főleg a (ii) csoport elemeit tekintve azt tapasztaltam, hogy az 50, 80 és 100% (v/v)-os etanol koncentrációjú kivonatokban nem várható ezen elemek koncentrációjának jelentős változása 1 hét után. A kivonószerek ez esetben kioldotta szinte az összes hozzáférhető elemet a nyers propoliszokból.

Az extrahálószer térfogatának változtatásakor megállapítottam, hogy a kétszeres térfogatú extrahálószerrel végzett extrahálás során a kinyerhető elemtartalom többnyire magasabb. Az összes elemet tekintve a növekedés átlagosan 13%-os, de 0 és 37% között alakult a változás a vizsgált elemektől függően. Nem állapítottam meg egyértelmű tendenciát abban a tekintetben, hogy a 80 vagy 100% (v/v)-os etanol koncentrációjú extrahálószerrel tendenciálisan különböző lenne a kinyerhető elemtartalom. Továbbá abban a vonatkozásban sem találtam tendenciát, hogy a 2,5 mL-hez képest az 5,0 mL vagy az 5 mL-hez képest a 10 mL térfogatú extrahálószer tendenciálisan befolyásolná a kinyerhető elemtartalmat a propoliszból.

Összességében tehát azt állapítottam meg az extrahálás jellemzőivel kapcsolatban, hogy az elemek többsége, melyek az (i) és a (ii) csoportba tartoznak, a vizes extrahálószerbe extrahálhatóak a legjobban. Ugyanakkor az emberi szervezet számára esszenciális elemek néhány kivétellel az 50 vagy a 80% (v/v)-os etanollal is jól kioldódnak. A tinktúrakészítéséhez használt extrahálószer etanol koncentrációja ezáltal drasztikusan meghatározza a végtermék elemösszetételét. Az időbeli növekedés vagy a csökkenés statisztikailag szignifikáns az 1 hónapos és 1 órás kezelés között, ugyanakkor nem szignifikáns, vagy a változás nem jelentős mértékű az 1 hetes és 1 hónapos kezelés elemösszetételét összehasonlítva. Elmondható, hogy az elemek koncentrációja nem változik jelentősen 1 hét extrakció után, vagyis a legtöbb ajánlásban alkalmazott néhány hetes extrakció állandó elemkoncentrációt eredményez az extrahálási idő tekintetében.

Emellett azt is megfigyeltem, hogy a tinktúra készítésénél használt extrahálószer térfogatának hatása van a végtermék elemtartalmára. Nagyobb térfogatú extrahálószer használatával csökken a tinktúrában lévő elemek koncentrációja, viszont általában kismértékben nő a kinyerhető elemek mennyisége.

További célként tűztem ki annak megállapítását, hogy **milyen kapcsolat áll fenn a tinktúrák flavonoid-tartalma és az elemösszetétele között**. A különböző extrakciós idejű és eltérő extrahálószerrel készült tinktúrákat vizsgálva azt állapítottam meg, hogy a vizes kivonatban a legalacsonyabb a szárazanyag-, a polifenol- és a flavonoid-tartalom, de szignifikánsan növekvő tendenciát mutatnak az extrahálási idő függvényében. Ezt követi az 50% (v/v)-os etanoltartalmú kivonat, ahol az idő függvényében többnyire szignifikáns növekedést tapasztaltam az említett három paraméter értékében. A legmagasabb szárazanyag- és flavonoid-tartalmat a 100% (v/v)-os, a legmagasabb polifenol-tartalmat a 80% (v/v)-os etanol koncentrációjú kivonatban kaptam, de a különbség sok esetben nem szignifikáns a 80 és 100% (v/v)-os etanol koncentrációjú extrahálószerrel készült tinktúrák között, illetve az extrakciós idő függvényében sem minden esetben tapasztaltam növekedést.

Az elemek és a flavonoidok korrelációs kapcsolatát megvizsgálva az (i) és (ii) csoportba sorolt elemek és a flavonoidok koncentráció változása között mindössze a vizes kivonatban találtam hasonló tendenciát. Az ide sorolt makroelemek és a flavonoidok koncentrációja a vizes kivonatban növekedést mutatott az idő függvényében, valamint az anyagmennyiség koncentrációjuk is közel állt egymáshoz. Azonban az extrahálási idő függvényében tapasztalt növekedés elsősorban annak tudható be, hogy az idő függvényében mind az elemek, mind a flavonoidok a koncentráció kiegyenlítődésére törekedtek. Viszont amennyiben komplexként lennének jelen, véleményem szerint az etanosos közegben is elemtartalom növekedést kellett volna tapasztalnom. Ebből arra következtetek, hogy az (i) és (ii) csoportba sorolt elemek elsősorban nem a flavonoidokhoz kötődnek, hanem egyéb molekulákhoz kötötten vagy ionos formában lehetnek jelen a nyers propoliszban. Az előző két csoport elemeihez viszonyítva erősebb korrelációt fedeztem fel a (iii) csoport elemei és a flavonoidok között. Ugyanakkor az extrahálási idő és az extrahálószer összetételét tekintve nem volt olyan elem, ami minden körülmények között szignifikáns korrelációt mutatott volna a flavonoidok koncentrációjával, viszont a Fe, Cu, U és a Cr állt hozzá legközelebb. Az említett elemek moláris koncentrációja elenyésző a flavonoidokéhoz képest. Ha komplexként jelen

lennének a propoliszokban, a komplexek mennyisége elhanyagolható lenne a teljes flavonoid koncentrációhoz viszonyítva. A komplexek egyértelmű igazolását, vagy jelenlétük megcáfolását kapcsolt analitikai technikákkal lehetne elvégezni.

A vizsgálataim során azt is meghatároztam, hogy **hogyan alakul az elemek átviteli hatásfoka a nyers propoliszból a tinktúrába**. Az átviteli hatásfok (TC) meghatározása során egyféle elkészítési körülményt választottam ki, mégpedig a leggyakrabban alkalmazott módszerhez hasonlóan, 1 hétig, 80% (v/v)-os etanollal extrahálva készítettem el a tinktúrákat. Az (i) csoport elemei esetében, melyek a vizes közegben drasztikusan jobban oldódnak, az elemek értelemszerűen alacsony átviteli hatásfokkal rendelkeznek ilyen körülmények között. A (ii) csoportba sorolt elemek – vagyis melyek jól oldódnak a vizes közegben, de közel hasonló mértékben oldódnak az 50% (v/v)-os etanolban is – átoldódásának mértéke a vizsgált körülmények között viszonylag magas. Ez kedvező, mivel a Cs kivételével esszenciális elemekről van szó, melyek jelentős hányada átkerül a tinktúrába. Átlagosan 30% fölött alakult az átviteli hatásfok a Mg, Co, B, P és Na elemek esetében, ugyanakkor a K tekintetében ez 61,8% volt átlagosan. A (iii) csoport elemei esetében jellemzően a 80% (v/v)-os etanolban volt a legmagasabb a koncentráció, ennek ellenére a TC elemenként nagymértékben eltérő volt, a mediánjuk 47,6% és 1,46% között változott. Az átviteli hatásfok mediánja tekintetében a sorrend a következőképpen alakul a meghatározott elemek esetében:

K>Na>Cu>P>B>Co>Mg>Ni>Mn>Zn>S>Mo>Cr>Ca>Cs>V>Fe>Sr>U>Al.

Azon elemek közül, melyek legalább a minták felében nem voltak mérhetőek, a Cd-nak a legmagasabb az átviteli hatásfoka 11,8%-kal. Az ide sorolható lantanoidák legnagyobb átviteli hatásfoka sem haladja meg az 5%-ot.

Arra is kerestem a választ, hogy **a tinktúra elemösszetétele alapján megállapítható-e a kiinduláshoz használt propolisz elemösszetétele**. A kiindulási és a végtermék közötti kapcsolat vizsgálatát ugyanolyan elkészítési módon készített tinktúrák elemzésével végeztem, így az eltérő tinktúrakészítési módok hatását kiküszöböltem. Az eredményeim azt mutatták, hogy számos elem esetében szignifikáns korrelációs kapcsolat áll fenn az elem nyers propoliszban és tinktúrában mért koncentrációja között. Ugyanakkor ezek a kapcsolatok nem minden esetben alapultak valós összefüggésen, melyre a pontdiagramok hívták fel a figyelmet. Ténylegesen erősnek tekinthető kapcsolatot találtam pl. a Na, P, S, Cu és K elemek vonatkozásában. A szignifikánsnak tűnő kapcsolat sok esetben néhány kiugró minta miatt mutatkozott annak.

Meghatároztam a tinktúra elemösszetétele és az átlagos átviteli hatásfok alapján az eredeti nyers propolisz becsült elemösszetételét. Elsősorban azoknak az elemeknek a koncentrációjára tudtam alacsony hibával következtetni, melyeknél erős korrelációs kapcsolatot figyeltem meg a tinktúra és a nyers minta elemösszetétele között. Megállapítottam azt, hogy azonos elkészítési körülmények között készülő tinktúrából a K koncentrációja jósolható meg a legkisebb hibával. A becsült és a valós koncentráció közötti egyezés 58,4–131,4% közötti. Elsősorban a nagyobb átviteli hatásfokú elemek tekintetében a hibának a szórása $\pm 50\%$ -on belül esik, ide tartozik a Na, Cu, S, P, B, Mg és Ni. Ennél nagyobb hibaszázalékkal tudtam megbecsülni a kisebb átviteli hatásfokkal rendelkező elemek koncentrációját. A lantanoidák koncentrációjára nem tudtam következtetni a tinktúrában mért kimutatási határ alatti koncentrációjuk miatt.

Végezetül arra kerestem a választ, hogy **a propolisz tinktúra esetében is alkalmazható-e az eredetazonosítási eljárás elemtartalom alapján.** A nyers propoliszt az elemösszetétele alapján 75,4%-os, illetve 60,3%-os hatásfokkal tudta csoportosítani a földrajzi eredete szerint az LDA, az eredeti csoportosítás és a keresztvalidálás során. Ahhoz, hogy a tinktúrák eredetét is azonosíthassam, következtetni kellene a nyers propolisz azon elemeinek összetételére, melyek az elkülönítéshez hozzájárultak. Megállapítottam azt, hogy azonos elkészítési körülmények mellett készülő tinktúrából a K jósolható meg a legkisebb hibaszázalékkal, viszont az eredetazonosítás szempontjából ez is jelentős mértékű hibával terhelt. Az alkalmazott LDA modell tartalmazta a lantanoidákra vonatkozó információkat is, mely az alacsony TC miatt a tinktúrák jelentős részében kimutatási határ alá esett, így ezekre nem is lehetne következtetni. Továbbá azt is kimutattam, hogy a tinktúrakészítési eljárások befolyásolják a tinktúra elemösszetételét. Az áztatási idő függvényében ugyan 1 hét extrakciós idő után alig változik a tinktúra elemtartalma, de az extrahálószer etanol összetétele drasztikus hatással van a kinyerhető elemkoncentrációkra. A kivonószer térfogata pedig mind a keletkező tinktúra elemkoncentrációját, mind az elemtartalmát meghatározza. Ezen tényezők eredményeként az elemösszetétel – habár a nyers propolisz eredetazonosítására részben alkalmas volt az eredményeim alapján, és más kutatók is kedvező eredményeket értek el vele –, a tinktúrák eredetazonosítására ilyen formában nem alkalmas. Ezen más analitikai módszerek alkalmazása segíthetne, mint pl. a flavonoid-összetétel vizsgálata, vagy a kivonatok izotóparányának meghatározása.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

A propolisz, illetve a belőle készült termékek az apiterápia egyik eszközét jelentik, melyek többek között antioxidáns, gyulladáscsökkentő és antibakteriális tulajdonságuk révén hozzájárulnak az ember egészségének fenntartásához és javításához. A pozitív élettani hatásuk elsősorban például a flavonoid-tartalmukhoz kötődik. A propoliszok szerves összetételét elemezve több mint 300 komponenst azonosítottak belőle. Ugyanakkor kevés információval rendelkezünk az elemösszetételüket tekintve, különös tekintettel a propolisz-tartalmú termékek, például a tinktúra elemtartalma vonatkozásában. Az elemösszetétel a nyers propoliszok – és más élelmiszerek tekintetében is – gyakran hasznos információval szolgál a földrajzi eredetükkel kapcsolatban. A földrajzi eredet pedig befolyással lehet a propolisz szerves komponenseire, annak biológiai tulajdonságaira egyaránt. Emiatt a vizsgálataim elsősorban a propolisz és a propolisz-tartalmú termékek elemösszetételének meghatározására összpontosítottak.

A vizsgálatokhoz lényeges szempontnak tartottam egy olyan mintaelőkészítési és mérési módszer alkalmazását, mely gyorsabbá teszi a minták elemösszetételének meghatározását, egyúttal annak analitikai jellemzői megfelelnek az elvárásoknak. A vizsgálatok során az egyik célom az volt, hogy megvizsgáljam a hazai nyers propoliszok elemösszetételét, illetve összehasonlítsam külföldi propoliszokban mért adatokkal. Egyúttal fel szerettem volna állítani egy adatbázist a hazai nyers propoliszok elemösszetételére vonatkozóan. Ki szerettem volna térni az elemösszetétel alkalmazhatóságára a nyers propoliszok földrajzi eredetének azonosítása tekintetében, illetve meghatározni, hogy mely elemek koncentrációját célszerű ehhez felhasználni. További célom volt a tinktúrakészítés során alkalmazott körülmények (az extrahálószer etanol koncentrációja és térfogata, az extrahálás ideje) hatásának feltárása az elemösszetételre, valamint hogy az elemek koncentrációjának van-e kapcsolata a flavonoidok koncentrációjával. Lényeges kérdésnek tartottam az elemek átviteli hatásfokának megállapítását a nyers propolisz és a tinktúra között, illetve hogy a tinktúra elemösszetétele és az átlagos átviteli hatásfok alapján milyen biztonsággal lehet becsülni a kezdeti nyers propolisz elemösszetételét. Végül meg szerettem volna állapítani, hogy a tinktúrák esetében alkalmazható-e az eredetazonosítás, azok elemösszetétele alapján.

Vizsgálataimat Magyarországon gyűjtött nyers propoliszokon (n=252) végeztem, melynek begyűjtése az Országos Magyar Méhészeti Egyesületen keresztül történt, a

méhészek által. A minták település szintű származását ismertem, a földrajzi eredetük azonosítását a régiók szintjén végeztem. A tinktúrakészítés hatásának értékelését egy hazai mintákból kevert propolisisszal ellenőriztem, az egyes elemek átviteli határfokának meghatározását pedig a mintákból véletlenszerűen kiválasztott propoliszokon vittem véghez. A nyers minták roncsolását „vessel inside vessel” módszerrel végeztem, mely azon alapult, hogy kb. 0,1000 g mennyiségű mintákat kvarccsövekbe mértem be 2 mL HNO₃ és 0,6 mL H₂O₂ mellett, majd teflonszalaggal lezártam. Ezeket teflonedényben helyeztem el, és mikrohullámú roncsolással készítettem elő a vizsgálathoz. A tinktúrákat direkt mintabevitellel nem tudtam analizálni, ezért ezeket is leroncsoltam. A roncsolásuk előtt 2 ml tinktúrából kiindulva egy bepárlást hajtottam végre. Az ezt követő lépések megegyeztek a nyers propoliszok roncsolásával. Az elemtartalom meghatározást induktív csatolású plazma optikai emissziós spektrométerrel (ICP-OES) és induktív csatolású plazma tömegspektrométerrel (ICP-MS) végeztem.

A kimutatási és meghatározási határok tekintetében a módszer kellően hatékony volt, ugyanis a nyers propoliszból 35 elem mennyiségi meghatározására alkalmas, minden nyers mintából. A tinktúránál a módszer kedvező kimutatási határa ellenére, az alacsony elemkoncentrációjuk miatt nem minden esetben kaptam mérhető koncentrációt. A módszer pontosságát, megismételhetőségét, reprodukálhatóságát, illetve a mérés stabilitását ellenőriztem és elfogadhatónak találtam. A roncsolási módszer megfelel a „zöld kémia” követelményeinek, ugyanis alacsony vegyszerfelhasználás mellett kis mennyiségű minta készíthető elő vele. Mivel akár 3 kvarccső is elhelyezhető egy teflonedényben belül, ezért a módszer mintaátbocsátási képessége megháromszorozódik, és egyszerre akár egymástól független minták is előkészíthetők ugyanazon teflonedényben, keresztszennyezés nélkül.

Összesen 252 hazai nyers propoliszt elemezve létrehoztam egy olyan adatbázist, ami 36 elemre vonatkozóan tartalmaz koncentráció eredményeket a minták elemösszetételéről. Ezek közül kiemeltem az elemkoncentrációk mediánját, átlagát, szórását, minimumát és maximumát, melyet a dolgozatban (13. táblázat) bemutatam. Ez az adatbázis ráadásul Magyarország propoliszait reprezentatív módon jellemző mintákból áll. Magyar propoliszokról eddig nem állt rendelkezésre ilyen jellegű adatbázis, sőt világszinten sincs egy országból, ekkora számú propolisz mintából, ilyen sok elemre vonatkozó elemtartalmi eredmény.

A nyers propoliszok elemösszetételét megvizsgálva azt tapasztaltam, hogy a koncentrációk széles tartományban fordulnak elő. Egy elemen belül a legkisebb és a

legnagyobb koncentrációjú minta elemkoncentrációja közötti arány 9–1638 között volt. Azt is megállapítottam, hogy az elemkoncentrációk a mintahalmazon belül nem követik a normál eloszlást, hanem jobbra ferde és csúcsos eloszlásúak. A vizsgált elemek koncentrációjának mediánja alapján a következő sorrendet tudtam felállítani:

K>Ca>S>P>Fe>Mg>Al>Zn>Na>Ba>B>Mn>Sr>Cu>Cr>Ni>V>Ce>Co>La>Nd>Mo>
Cd>Pr>Gd>Sm>Cs>Dy>U>Eu>Er>Yb>Tb>Ho>Tm>Lu.

Külföldi minták eredményeivel összevetve a legnagyobb különbségeket a dél-spanyolországi és a kínai mintákkal szemben tapasztaltam. Jellemzően a dél-spanyol, kínai és horvát propoliszokban a Ca koncentrációja megelőzi a K-ét, míg a hazai mintáknál ez általában fordítva van. Az argentin mintákkal szemben a lantanoidák koncentrációi térnek el jelentősen. Más kutatásokban közölt eredményekkel összehasonlítva, többnyire hasonlóságot figyeltem meg.

A nyers propoliszok földrajzi eredetének azonosítását a mért elemtartalmi koncentrációk logaritmizált értékei alapján vittem véghez. A főkomponens analízis nem bizonyult hatékony csoportosítási módnak, ezért a lineáris diszkriminancia analízist (LDA) használtam fel. A csoportosításhoz az Al, B, Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, S, Sr, Cs, Ce, Pr, Nd, Sm, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb és Lu elemeket alkalmaztam. A klasszifikációs táblázat „eredeti” csoportosítása azt igazolta, hogy az észak-alföldi régióból származó minták elkülönítése 96,3% megbízhatósággal lehetséges. A többi csoport elkülöníthetősége 64,7–80,0% között alakult. A csoportosítást a keresztvalidálással ellenőriztem, ami azt mutatta, hogy ismeretlen mintaként az észak-alföldi régióhoz tartozó minták helyes osztályba sorolása 74,1%-ra csökkent, ami még mindig viszonylag magas. A további régiók osztályozásának hatékonysága 44,7–72,0% között alakult. Összességében az LDA eredeti osztályozási módszere alapján a minták 75,4%-át tudta megfelelően osztályozni, a keresztvalidálás alapján ez az arány 60,3%-ra csökkent. Az elemtartalom szerint végzett eredetazonosítás tehát részben alkalmas a hét magyarországi régióból származó nyers propoliszok eredetének igazolására.

A tinktúrakészítés hatását vizsgáltam eltérő etanoltartalmú extrahálószerrel (0, 50, 80 és 100% (v/v)), illetve különböző időtartamokig (1 óra, 1 nap, 1 hét és 1 hónap) végzett extrahálás során. Az elkészült tinktúrákat elemezve azt állapítottam meg, hogy a meghatározott elemek az oldhatóságuk alapján három nagy csoportba sorolhatók. Az (i) csoport elemei drasztikusan jobban oldódnak a vizes közegben, mint az etanoltartalmú extrahálószerekben, a (ii) csoport elemei a vizes közeg mellett az 50% (v/v)-os etanolban is hasonlóan jól extrahálhatóak, míg a (iii) csoportba tartozó elemek általában a 80%-

(v/v)-os etanollal nyerhetőek ki leginkább. Az is kiderült, hogy az esszenciális elemek jelentős része (B, K, Mg, Na, P, S, Zn, Mn, Co) a vizes és az 50%(v/v)-os etanoltartalmú extraháló közegbe oldódik át a hatékonyabban, de a 80 (v/v)-os etanolt alkalmazva is jelentős. Ugyanakkor az utóbb említett körülmények között néhány toxikus elem, mint pl. a Cd vagy az Al extrahálhatósága alacsony. Mivel a tinktúrakészítésnél általában 80% (v/v)-os etanolt alkalmaznak, az elemtartalom szempontjából ez kedvező az ember egészségére nézve.

Főleg a (ii) csoport elemeit tekintve azt tapasztaltam, hogy az 50, 80 és 100% (v/v)-os etanoltartalmú kivonatokban nem várható ezen elemek koncentrációjának változása 1 hét extrahálás után. A kivonószer ez esetben kioldotta szinte az összes hozzáférhető elemet a nyers propoliszokból. Megállapítottam továbbá, hogy nagyobb térfogatú extrahálószer használatával csökken a tinktúra koncentrációja, viszont általában kismértékben nő a kinyerhető elemek mennyisége.

Vizsgálataim kitértek az összes flavonoid-tartalom meghatározására a különböző tinktúrakészítési módok mellett, valamint a flavonoid-koncentráció korrelációs kapcsolatára az elemkoncentrációkkal. A flavonoid-tartalom a vizes kivonatban a legalacsonyabb, de szignifikánsan növekvő tendenciát mutat az extrahálási idő függvényében. Az etanoltartalom növelésével a flavonoid koncentráció is nőtt a tinktúrában. Az (i) és (ii) csoport elemeivel mindössze a vizes kivonatban mutattam ki korrelációt, ami elsősorban annak tudható be, hogy az idő függvényében mind az elemek, mind a flavonoidok a koncentráció kiegyenlítésére törekedtek. Az etanoltartalmú extrahálószerekben viszont gyenge az elemkoncentrációk korrelációs kapcsolata a flavonoidokéval. A (iii) csoport elemei, főleg a Fe, Cu, U és a Cr esetében mutatható ki erősebb korrelációs kapcsolat a flavonoidokkal összevetve. Viszont az említett elemek moláris koncentrációja elenyésző a flavonoidok moláris koncentrációjához képest. Tehát ha esetleg mégis komplexként lennének jelen a propoliszokban, a komplexek mennyisége elhanyagolható lenne a teljes flavonoid koncentrációhoz viszonyítva.

A nyers propolisz és a tinktúra kapcsolatát vizsgálva, meghatároztam az elemek átviteli hatásfokát (TC) 80% (v/v)-os etanollal végzett, 1 hetes extrakciót követően. Az (i) csoport elemei esetében, melyek a vizes közegbe oldódtak át drasztikusan jobban, értelemszerűen alacsony átviteli hatásfokkal rendelkeznek ilyen körülmények mellett. A (ii) csoportba sorolt elemeknél – vagyis melyek jól oldódnak a vizes közegben, de közel hasonló mértékben oldódnak az 50% (v/v)-os etanolban – az átoldódás mértéke általában viszonylag magas. Ez kedvező, mivel a Cs kivételével esszenciális elemekről van szó,

melyek jelentős hányada átkerül a tinktúrába. Átlagosan 30% fölött alakult az átviteli hatásfok a Mg, Co, B, P és Na elemek esetében, ugyanakkor a K tekintetében ez 61,8% volt átlagosan. A (iii) csoport elemei esetében jellemzően a 80% (v/v)-os etanolban a legmagasabb a koncentrációjuk, ennek ellenére a TC elemenként nagymértékben eltérő, a mediánjuk 1,46 és 47,6% között változik. Az átviteli hatásfok mediánja szerint rendezve a sorrend a következőképpen alakul:

K>Na>Cu>P>B>Co>Mg>Ni>Mn>Zn>S>Mo>Cr>Ca>Cs>V>Fe>Sr>U>Al.

Ellenőriztem azt, hogy a tinktúra elemösszetétele alapján milyen pontossággal becsülhető a kiinduláshoz használt nyers propolisz elemösszetétele. Megállapítottam, hogy azonos elkészítési körülmények mellett készülő tinktúrából a K koncentrációja jósolható meg a legkisebb hibaszázalékkal, azaz 58,4–131,4% közötti egyezéssel a valós értékéhez képest. Elsősorban a magas átviteli hatásfokú elemek tekintetében a hibának a szórása $\pm 50\%$ -on belül esik, ide tartozik a Na, Cu, S, P, B, Mg és Ni. Ennél nagyobb hibaszázalékkal tudtam megbecsülni a kisebb átviteli hatásfokkal rendelkező elemek koncentrációját. A lantanoidák koncentrációjára nem tudtam következtetni, a tinktúrában mért kimutatási határ alatti koncentrációjuk miatt.

Ahhoz, hogy a tinktúrák eredetét is azonosíthassam, következtetni kellene a nyers propolisz azon elemeinek összetételére, melyek az elkülönítéshez hozzájárultak. Azonos elkészítési körülmények mellett készült tinktúrákból a legkisebb hibával a K koncentrációja becsülhető. Azt figyeltem meg, hogy az átviteli hatásfok csökkenése mellett a hiba nagysága nőtt. A becslés bizonytalanságát tovább növeli az elkészítési körülményeknek a hatása. Emiatt az elemtartalom önmagában nem alkalmas a propolisz tinktúrák földrajzi eredetének azonosítására, viszont a nyers propoliszokból részben alkalmas volt az eredetazonosításra a hazai mintákban.

8. SUMMARY

Propolis, as well as their products are one of the parts of apitherapy, which have an effect to maintain or improve the human health by its antioxidant, anti-inflammatory and antibacterial properties. The positive effect of the propolis connects to e.g. its flavonoid content. More than 300 compounds were identified by analyzing the organic content of propolis. However, the mineral content of propolis has not been so thoroughly studied, especially in the case of propolis products such as tinctures. The mineral content of raw propolis or any kind of food also can be often useful to identify the geographical origin of it. Moreover, the geographical origin can have an impact to the organic content as well as the biological properties of the propolis. Therefore my research was chiefly focusing on the analysis of the mineral content of propolis and propolis products.

It was an important point to apply such a sample preparation and analysis method, which can make faster the measurement of the element content of propolis, moreover their characteristics meets the requirements. One of my aim was the analysis of the mineral content of Hungarian raw propolis, as well as to compare them with the results of propolis originating from other countries. Moreover, I wanted to make a database which contains the mineral composition of Hungarian raw propolis. Another goal was to apply the mineral content of raw propolis for the geographical identification of them, as well as to identify the elements which are useful in this situation. I also wanted to evaluate the effect of extraction parameters, such as the ethanol content and the volume of the extraction solvent, as well as the extraction time to the mineral content of the tinctures, together with their relationship with the flavonoid concentration. The determination of the transfer coefficient between the raw propolis and the tinctures was an important point. I also wanted to determine that what can be the mistake of the prediction, if we want to say the mineral content of the original raw propolis based on the element content of its tincture and the average transfer coefficient. Finally, I wanted to determine the possibility of the geographical identification of tinctures by their mineral composition.

Totally 252 Hungarian raw propolis were analyzed, which were collected by the beekeepers, and the collection was controlled by the National Beekeepers' Association of Hungary. The settlement of the collection was known, and the geographical identification was done by separating the different regions. A mixed raw propolis sample was used for analyzing the effect of the extraction method. The determination of transfer coefficient of the analyzed elements was done from randomly chosen raw propolis

samples. Vessel inside vessel method was used for digestion the raw propolis. Approximately 0.1000 g samples were deposited into quartz tubes followed by addition of 2 mL HNO₃ and 0.6 mL H₂O₂ and the quartz tubes were sealed with Teflon tape. Closed quartz tubes were placed in polytetrafluoroethylene vessels and the sample preparation was completed by microwave digestion. The tinctures could not be analyzed by direct introduction them into the plasma, so they were also digested. Evaporation of the solvent was necessary of the 2 mL tincture before digestion. The following steps of the digestion were the same as in the case of raw propolis. Element analysis was carried out with inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS).

The limit of detections and limit of quantifications of the method are good enough, therefore I could determine the concentration of 35 element from all the raw propolis samples. Even though the limit of detections are very favorable, I could not determine all the element concentrations in the case of tinctures. I had measured the accuracy, repeatability, reproducibility and stability of the method, which were found acceptable. The digestion method matches with the requirements of green chemistry, because it needs low amount of chemicals as well as small amount of samples can be prepared with it. Up to three quartz tubes can be placed into a Teflon vessel, thus sample throughput was increased by up to three times. Independent samples can also be placed in the same Teflon vessel simultaneously without cross contamination.

I have created a database which contains information about 36 element composition of 252 Hungarian raw propolis samples. I have highlighted the median, average, standard deviation, minimum and maximum of the element concentrations, which was presented in my thesis (*Table 13.*). The analyzed samples presented in the database are representing the characteristics of Hungarian propolis. This kind of database has not existed so far from Hungarian propolis. Moreover we cannot find globally such a results of element contents of propolis, which is representing one country and consists of such number of elements.

I have found by analyzing the element content of raw propolis samples, that element concentrations are present in a wide range. The ratio of the highest and the lowest concentration is between 9 and 1638 in the case of the same element. I have also established, that element concentrations in the sample set were not presented a normal distribution, but had a positive skewness and a positive kurtosis. I have also created an order by the median of the element concentrations, which is:

K>Ca>S>P>Fe>Mg>Al>Zn>Na>Ba>B>Mn>Sr>Cu>Cr>Ni>V>Ce>Co>La>Nd>
Mo>Cd>Pr>Gd>Sm>Cs>Dy>U>Eu>Er>Yb>Tb>Ho>Tm>Lu.

I was trying to match my results of samples with results of raw propolis originating from other countries. The highest differences are observed compared to South Spanish and Chinese propolis. The concentration of Ca is usually higher than the concentration of K in South Spanish, Chinese and Croatian samples, in contrast with most of the Hungarian propolis. Concentration of lanthanides are highly differing in contrast with Argentinian propolis. In general, results which are presented by other researchers are in good agreement with my results.

I have done the geographical identification of raw propolis samples using the logarithm of the concentrations of measured elements. Principal component analysis was not working well as a grouping method, so I have used linear discriminant analysis (LDA). The grouping variables are the Al, B, Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, S, Sr, Cs, Ce, Pr, Nd, Sm, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb and Lu elements. The original part of the classification table showed that samples originated from Northern Great Plain were discriminated by 96.3% efficiency. The discrimination efficiency of the other regions were between 64.7% and 80.0%. I have verified the LDA method with the cross validation, which showed that the grouping efficiency of the samples originating from Northern Great Plain as unknown ones were decreased up to 74.1%, which it is rather high. The discrimination efficiency of the other regions were between 44.7% and 72.0%. To sum up, the original LDA method have discriminated the propolis samples with 75.4% efficiency, while in the case of the cross validation it was decreased up to 60.3%. The geographical identification of raw propolis is partially efficient to discriminate samples originating from the seven Hungarian regions based on their element composition.

I have analyzed the effect of the different ethanol content extraction solvents (0, 50, 80 and 100% (v/v)) and the different extraction times (1 hour, 1 day, 1 week and 1 month) to the element content of the tinctures. By analyzing the different tinctures, I have established that the analyzed elements were classified into three main groups by their behavior. Elements in group (i) dissolved considerably better in aqueous extraction solvents than in solutions containing ethanol. Elements in group (ii) dissolved mostly in aqueous extractant, but extracted well also in 50% (v/v) ethanol content solutions. Elements classified into group (iii) were extracted mostly in 80% (v/v) ethanol content solvents. It was also determined that most of the essential elements (namely B, K, Mg, Na, P, S, Zn, Mn, Co) were extracted well in aqueous and 50% (v/v) ethanol content

solvents, but the extraction was also efficient using 80% (v/v) ethanol. In contrast, the extraction efficiency of some toxic elements, like Cd and Al was low in the latter case. While 80% (v/v) ethanol is the most often used extraction solvent for propolis tinctures, it is favorable for the human health from the perspective of element composition.

The concentration of the elements, mainly belong to group (ii) did not change greatly after a 1 week extraction in 50, 80 and 100% (v/v) ethanol content solvents. The extraction solvent has dissolved all the accessible elements from raw propolis in the aforementioned cases. Moreover, I have established that the increasing volume of the extraction solvent is decreasing the concentration of the element in the tincture, but the extracted amount of the element is usually a bit higher.

I have also measured the total flavonoid content of tinctures in relation to the different preparation methods, as well as its correlation was also calculated with the element concentrations. Flavonoid content was the lowest in the aqueous extract of the propolis, however significant increase was noticed depending on the extraction time. The flavonoid content of the tincture was increased by the increasing ethanol content of the extraction solvent. I have found that the elements of group (i) and (ii) has a positive correlation with flavonoids just using the aqueous solvent. It can be explained by the fact that the elements and also the flavonoids try to reach a balance and equilibrium during the extraction process. However their correlation was weak in the ethanol content extraction solvents. The (iii) group of elements, especially the Fe, Cu, U and Cr has a stronger correlation with the flavonoids. However the molar concentration of the aforementioned elements is much lower than the molar concentration of total flavonoids. So if there is a complex in propolis between the metals and flavonoids, its concentration is negligible compared to the total flavonoid content.

I have evaluated the transfer coefficient (TC) of the minerals between tinctures and raw propolis in 80% (v/v) ethanol content extraction solvent after 1 week extraction. In case of group (i) elements, which are dissolved considerably better in aqueous extraction solvents, transfer coefficient was low in the aforementioned conditions. Group (ii) elements, which are dissolved the best in aqueous solvents, but dissolved well in 50% (v/v) ethanol content solutions also, transfer coefficient was quite high in the analyzed conditions. It is favorable, because elements except Cs belonging into this group are essential, which are transferring into the tincture at high ratio. The average of transfer coefficient was over 30% in the case of Mg, Co, B, P and Na elements, while the average was 61.8% in the case of K. Group (iii) elements were usually present with the highest

concentration in 80% (v/v) ethanol content tinctures, but even so their transfer coefficient was very various, because the median of TC was changed between 1.46 and 47.6%. The order of the elements based on the median of the transfer coefficient is:

K>Na>Cu>P>B>Co>Mg>Ni>Mn>Zn>S>Mo>Cr>Ca>Cs>V>Fe>Sr>U>Al.

I have checked the accuracy of the estimation of original raw propolis element content based on the element content of their tincture. I have determined that K content can be estimated with the lowest mistake, if we are using the same conditions of the extraction. The match of the estimated and the real concentration was between 58.4 and 131.4%. The standard deviation of the mistake was lower than $\pm 50\%$, chiefly in the case of elements which had high transfer coefficient, like Na, Cu, S, P, B, Mg and Ni. There was a higher standard deviation of the mistake in the case of elements with low transfer coefficient. Lanthanides could not be estimated, because they are under the limit of detection in most of the cases.

If I would like to identify the geographical origin of the tinctures by using their element composition, I should estimate those elements content, which are used to discriminate the original raw propolis. The K content can be estimated with the lowest mistake, if the same extraction conditions are applied. However I have found that the mistake is increasing by the decreasing transfer coefficient. The uncertainty of the estimation is also increased by the different preparation methods of the tinctures. Therefore the element composition cannot be used alone for identify the geographical origin of tinctures, however it was partially suitable for discrimination of Hungarian raw propolis samples.

9. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Meghatároztam az egyes analitikai teljesítményjellemzőit a kis mennyiségű minták elemtartalmi mérésére alkalmas módszerek, melyet a vizsgálataim során használtam. A mintaelőkészítés mikrohullámú roncsolásos előkészítéssel, az elemtartalmi meghatározás pedig ICP-OES és ICP-MS mérés technikákkal történt. Bizonyítottam, hogy a módszer alkalmas a nyers propoliszokból 35 elem koncentrációjának analízisére.
2. Összesen 252 magyarországi nyers propoliszt elemezve létrehoztam egy elemtartalmi adatbázist 36 elemre vonatkozóan, mely reprezentatív módon tükrözi a hazai propoliszok elemösszetételét. Magyar propoliszokról eddig nem állt rendelkezésre ilyen jellegű adatbázis, sőt világszinten sincs egy országból ekkora számú propolisz mintára vonatkozó, és ilyen sok elemre kiterjedő elemtartalmi eredmény.
3. A propoliszokat a hét magyarországi régió szerint csoportosítva bizonyítottam, hogy az elemtartalom szerint végzett eredetazonosítás részben alkalmas az említett régiókból származó nyers propoliszok eredetének igazolására. Lineáris diszkriminancia analízissel a minták 75,4%-át tudta a csoportosítási modell megfelelően osztályozni, a keresztvalidálás alapján ez az arány 60,3%-ra csökkent.
4. Az eltérő körülmények között (0, 50, 80 és 100% (v/v)-os etanoltartalmú extrahálószerrel, 1 óra, 1 nap, 1 hét és 1 hónap időtartamig) készített tinktúrák elemösszetételét értékelve bizonyítottam, hogy a meghatározott elemek három eltérően viselkedő csoportba sorolhatóak. Az (i) csoportba sorolt elemek drasztikusan jobban oldódnak a vizes közegben, a (ii) csoportba sorolt elemek a vizes közeg mellett az 50% (v/v)-os etanolban is hasonlóan jól extrahálhatóak, míg a (iii) csoport elemei általában a 80%-(v/v)-os etanollal nyerhetők ki leginkább.

5. A tinktúrákat különböző ideig extrahálva (1 óra, 1 nap, 1 hét és 1 hónap) megállapítottam, hogy az etanoltartalmú kivonószerekkel extrahálva (50, 80 és 100% (v/v)) 1 hét után többnyire nem tapasztalható szignifikáns változás a vizsgált elemek koncentrációját tekintve. Ez alapján a legtöbb ajánlásban alkalmazott néhány hetes extrakció állandó elemkoncentrációt eredményez az extrahálási idő tekintetében.
6. Magyarországi propoliszokat elemezve bizonyítottam, hogy az elemek rendkívül változó átviteli hatásokkal rendelkeznek a nyers propoliszból a tinktúrába, 1 hét extrakciós idő esetében, 80% (v/v)-os etanollal extrahálva. Az átlagos átviteli hatásfokot tekintve ez a következő sorrendben alakul: K>Na>Cu>P>B>Co>Mg>Ni>Mn>Zn>S>Mo>Cr>Ca>Cs>V>Fe>Sr>U>Al. A Cd, a Ba és a lantanoidák átviteli hatásfoka legalább a minták felében nem volt meghatározható.
7. A propolisz tinktúrák földrajzi eredetének azonosítását vizsgálva arra jutottam, hogy ez nem végezhető el kizárólag az elemösszetétel alapján. Ugyan az extrahálás során 1 hét után időben állandó összetétel alakul ki, de az elemösszetételt drasztikusan meghatározza az extraháláshoz használt etanol koncentrációja, illetve a térfogata. Ugyanolyan körülmények között végzett extrahálás esetén is magas hibával becsülhető az eredeti nyers propolisz elemösszetétele.

10. GYAKORLATBAN HASZNOSÍTHATÓ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. A mintaelőkészítési és mérési módszer egyes analitikai jellemzőit leírtam, ami kedvező analitikai mutatókkal rendelkezett a propoliszok vagy tinktúrák elemzésére. Ugyanakkor más növényi vagy állati eredetű, kis mintamennyiségű minta elemtartalom meghatározására is alkalmazható lehet ez a mintaelőkészítés. Felhasználható pl. klinikai jellegű minták előkészítésére, melyeknél gyakran fennáll az a probléma, hogy korlátozott a rendelkezésre álló mintamennyiség.
2. Elemtartalmi eredmények alapján igazoltam, hogy a nyers propoliszok eredetazonosítása magyarországi minták esetében részben lehetséges azok elemtartalmi összetétele alapján. Ez azért jelentős, mert a földrajzi eredete befolyásolhatja a propolisz élettani hatásait. Az elemtartalmi vizsgálatok pedig egy lehetséges azonosítási módot jelenthetnek a származás igazolására.
3. Bizonyítottam, hogy a nyers propoliszból az esszenciális elemek jelentős része (B, K, Mg, Na, P, S, Zn, Mn és Co) a vizes és az 50% (v/v)-os etanol koncentrációjú extraháló közegbe oldódik át a leghatékonyabban, de 80% (v/v)-os etanolt alkalmazva is jelentős az átvitel. Ugyanakkor néhány toxikus elem, mint pl. a Cd vagy az Al átviteli határfoka alacsony ilyen körülmények között. Mivel a tinktúrákészítésnél általában 80% (v/v)-os etanolt alkalmaznak, a tinktúra elemösszetétele szempontjából ez kedvező az emberi egészségre nézve.

IRODALOMJEGYZÉK

- Abid, M. – Jabbar, S. – Wu, T. – Hashim, M.M. – Hu, B. – Lei, S. – Zeng, X.: 2014. Sonication enhances polyphenolic compounds, sugars, carotenoids and mineral elements of apple juice. *Ultrasonics Sonochemistry*. 21. (1): 93-97.
- Ahn, M. – Kumazawa, S. – Usui, Y.. – Nakamura, J. – Matsuka, M. – Zhu, F. – Nakayama, T.: 2007. Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. *Food Chemistry*. 101. 1383-1392.
- Aliboni, A.: 2014. Propolis from Northern California and Oregon: chemical composition, botanical origin, and content of allergens. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 69. 10-20.
- Andrade, J.K.S. – Denadai, M. – de Oliveira, C.S. – Nunes, M.L. – Narain, N.: 2017. Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region. *Food Research International*. 101. 129-138.
- Anjum, S.I. – Ullah, A. – Khan, K.A. – Attaullah, M. – Khan, H. – Ali, H. – Bashir, M.A. – Tahir, M. – Ansari, M.J. – Ghramh, H.A. – Adgaba, N. – Dash, C.K.: 2018. Composition and functional properties of propolis (bee glue): a review. *Saudi Journal of Biological Sciences*. In press.
- Antúnez, K. – Harriet, J. – Gende, L. – Maggi, M. – Eguaras, M. – Zunino, P.: 2008. Efficacy of natural propolis extract in the control of American Foulbrood. *Veterinary Microbiology*. 131. 324-331.
- Bankova, V. – De Castro, S. – Marcucci, M.: 2000. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*. 31. (1): 3-15.
- Bankova, V. – Popova, M. – Bogdanov, S. – Sabatini, A.: 2002. Chemical composition of European propolis: expected and unexpected results. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 57. 530-533.
- Barth, O.M. – Freitas, A.d.S.d. – Matsuda, A.H. – Almeida-Muradian, L.B.d.: 2013. Botanical origin and Artepillin-C content of Brazilian propolis samples. *Grana*. 52. (2): 129-135.
- Bartha D.: 2004. A Magyarországon előforduló nyár (*Populus L.*) taxonok határozókulcsa és rövid jellemzése. *Flora Pannonica*. 2. (2): 85-101.
- Bassbasi, M. – De Luca, M. – Ioele, G. – Oussama, A. – Ragno, G.: 2014. Prediction of the geographical origin of butters by partial least square discriminant analysis (PLS-DA) applied to infrared spectroscopy (FTIR) data. *Journal of Food Composition and Analysis*. 33. (2): 210-215.
- Bat, K.B. – Vodopivec, B.M. – Eler, K. – Ogrinc, N. – Mulič, I. – Masuero, D. – Vrhovšek, U.: 2018. Primary and secondary metabolites as a tool for differentiation of apple juice according to cultivar and geographical origin. *LWT – Food Science and Technology*. 90. 238-245.

- Beekman, M. – Ratnieks, F.: 2000. Long-range foraging by the honey-bee, *Apis mellifera* L. *Functional Ecology*. 14. (4): 490-496.
- Bendicho, C. – Lavilla, I. – Pena-Pereira, F. – Romero, V.: 2012. Green chemistry in analytical atomic spectrometry: a review. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 27. 1831-1857.
- Bong, Y. – Shin, W. – Gautam, M.K. – Jeong, Y. – Lee, A. – Jang, C. – Lim, Y. – Chung, G. – Lee, K.: 2012. Determining the geographical origin of Chinese cabbages using multielement composition and strontium isotope ratio analyses. *Food Chemistry*. 135. 2666-2674.
- Bonvehí, J.S. – Bermejo, F.O.: 2013. Element content of propolis collected from different areas of South Spain. *Environmental Monitoring and Assessment*. 185. 6035-6047.
- Bonvehí, J.S. – Coll, F.V.: 2000. Study on propolis quality from China and Uruguay. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 55. 778-784.
- Borba, R.S. – Spivak, M.: 2017. Propolis envelope in *Apis mellifera* colonies supports honey bees against the pathogen *Paenibacillus larvae*. *Scientific Reports*. 7. 11429.
- Borba, R.S. – Wilson, M.B. – Spivak, M.: 2017. Hidden benefits of honeybee propolis in hives. [in: Vreeland, R.H. – Sammataro, D. (szerk): *Beekeeping—From Science to Practice*] Springer, Cham, 17-38.
- Borse, B. – Rao, L.J.M. – Nagalakshmi, S. – Krishnamurthy, N.: 2002. Fingerprint of black teas from India: identification of the regio-specific characteristics. *Food Chemistry*. 79. 419-424.
- Boukraâ, L.: 2014. Healing Properties of Honey. [in: Boukraâ, L (szerk.) *Honey in Traditional and Modern Medicine*.] CRC Press, New York. 37–58.
- Bueno-Silva, B. – Marsola, A. – Ikegaki, M. – Alencar, S.M. – Rosalen, P.L.: 2016. The effect of seasons on Brazilian red propolis and its botanical source: chemical composition and antibacterial activity. *Natural Product Research*. 31. (11): 1318-1324.
- Callao, M.P. – Ruisánchez, I.: 2018. An overview of multivariate qualitative methods for food fraud detection. *Food Control*. 86. 283-293.
- Camin, F. – Perini, M. – Bontempo, L. – Galeotti, M. – Tibaldi, E. – Piasentier, E.: 2018. Stable isotope ratios of H, C, O, N and S for the geographical traceability of Italian rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Food Chemistry*. 267. 288-295.
- Camuri, I.J. – Costa, A.B. – Ito, A.S. – Pazin, W.M.: 2018. Optical absorption and fluorescence spectroscopy studies of Artepillin C, the major component of green propolis. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 198. 71-77.
- Cantarelli, M.Á, Camiña, J.M. – Pettenati, E.M. – Marchevsky, E.J. – Pellerano, R.G.: 2011. Trace mineral content of Argentinean raw propolis by neutron activation

- analysis (NAA): Assessment of geographical provenance by chemometrics. *LWT – Food Science and Technology*. 44. 256-260.
- Cao, X. – Chen, Y. – Zhang, J. – You, M. – Wang, K. – Hu, F.: 2017. Mechanisms underlying the wound healing potential of propolis based on its *in vitro* antioxidant activity. *Phytomedicine*. 34. 76-84.
- Caredda, M. – Addis, M. – Ibba, I. – Leardi, R. – Scintu, M.F. – Piredda, G. – Sanna, G.: 2017. Building of prediction models by using Mid-Infrared spectroscopy and fatty acid profile to discriminate the geographical origin of sheep milk. *LWT – Food Science and Technology*. 75. 131-136.
- Carvalho, A.A. – Finger, D. – Machado, C.S. – Schmidt, E.M. – da Costa, P.M. – Alves, A.P.N.N. – Morais, T.M.F. – de Queiroz, M.G.R. – Quinária, S.P. – da Rosa, M.R. – dos Santos, J.M.T. – Savaya, C.H.F. – Eberlin, M.N. – Torres, Y.R.: 2011. *In vivo* antitumoural activity and composition of an oil extract of Brazilian propolis. *Food Chemistry*. 126. 1239-1245.
- Castaldo, S. – Capasso, F.: 2002. Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*. 73. S1-S6.
- Catchpole, O.J. – Grey, J. – Mitchell, K. – Lan, J.: 2004. Supercritical antisolvent fractionation of propolis tincture. *The Journal of Supercritical Fluids*. 29. 97-106.
- Chan, G.C. – Cheung, K. – Sze, D.M.: 2013. The immunomodulatory and anticancer properties of propolis. *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*. 44. (3): 262-273.
- Chen, Y. – Ye, S. – Ting, C. – Yu, Y.: 2018. Antibacterial activity of propolis from Taiwanese green propolis. *Journal of Food and Drug Analysis*. 26. (2): 761-768.
- Chen, C. – Lee, Y. – Chang, C.J. – Lee, M. – Wei, I.: 2007. Hot-pressurized fluid extraction of flavonoids and phenolic acids from Brazilian propolis and their cytotoxic assay *in vitro*. *Journal of Chinese Institute of Chemical Engineers*. 38. (3-4): 191-196.
- Cheng, H. – Qin, Z. – Guo, X. – Hu, X. – Wu, J.: 2013. Geographical origin identification of propolis using GC-MS and electronic nose combined with principal component analysis. *Food Research International*. 51. 813-822.
- Choi, Y. – Noh, D. – Cho, S. – Suh, H. – Kim, K. – Kim, J.: 2006. Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT – Food Science and Technology*. 39. 756-761.
- Chudzinska, M. – Baralkiewicz, D.: 2010. Estimation of honey authenticity by multielements characteristics using inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) combined with chemometrics. *Food and Chemical Toxicology*. 48. 284-290.
- Conti, M.E. – Botrè, F.: 2001. Honeybees and their products as potential bioindicators of heavy metals contamination. *Environmental Monitoring and Assessment*. 69. 267-282.

- Costa, P. – Almeida, M.O. – Lemos, M. – Arruda, C. – Casoti, R. – Somensi, L.B. – Boeing, T. – Mariott, M. – da Silva, R.C.M.V.A.F. – Stein, B.D.P. – de Souza, P. – dos Santos, A.C. – Bastos, J.K. – da Silva, L.M. – de Andrade, S.F.: 2018. Artepillin C, drupanin, aromadendrin-4'-O-methyl-ether and kaempferide from Brazilian green propolis promote gastroprotective action by diversified mode of action. *Journal of Ethnopharmacology*. 226. 82-89.
- Cozzolino, D. – Cynkar, W. – Shah, N. – Smith, P.A.: 2011. Can spectroscopy geographically classify Sauvignon Blanc wines from Australia and New Zealand? *Food Chemistry*. 126. 673-678.
- Cvek, J. – Medić-Šarić, M. – Vitali, D. – Vedrina-Dragojević, I. – Šmit, Z. – Tomić, S.: 2008. The content of essential and toxic elements in Croatian propolis samples and their tinctures. *Journal of Apicultural Research*. 47. (1): 35-45.
- da Cruz Almeida, E.T. – da Silva, M.C.D. – dos Santos Oliveira, J.S.- Kamiya, R.U. – dos Santos Arruda, R.E. – Vieira, D.A. – da Costa Silva, V. – Escodro, P.B. – Basílio-Júnior, I.D. – do Nascimento, T.G.: 2017. Chemical and microbiological characterization of tinctures and microcapsules loaded with Brazilian red propolis extract. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 7. 280-287.
- Daliu, P. – Santini, A. – Novellino, E.: 2019. From pharmaceuticals to nutraceuticals: Bridging disease prevention and management. *Expert Review of Clinical Pharmacology*. 12. (1): 1-7.
- De Groot, A.C. – Popova, M.P. – Bankova, V.S.: 2014. An update on the constituents of poplar-type propolis. Wapserveen, The Netherlands: acdegroot publishing. 11.
- Di Bella, G. – Lo Turco, V. – Potorti, A.G. – Bua, G.D. – Fede, M.R. – Dugo, G.: 2015. Geographical discrimination of Italian honey by multi-element analysis with a chemometric approach. *Journal of Food Composition and Analysis*. 44. 25-35.
- Dogan, M. – Silici, S. – Saraymen, R. – Ilhan, I.: 2006. Element content of propolis from different regions of Turkey. *Acta Alimentaria*. 35. (1): 127-130.
- Drescher, N. – Klein, A. – Neumann, P. – Yañez, O. – Leonhardt, S.D.: 2017. Inside honeybee hives: Impact of natural propolis on the ectoparasitic mite *Varroa destructor* and viruses. *Insects*. 8. (1): 15.
- Duke, C.C. – Tran, V.H. – Duke, R.K. – Abu-Mellal, A. – Plunkett, G.T. – King, D.I. – Hamid, K. – Wilson, K.L. – Barrett, R.L. – Bruhl, J.J.: 2016. A sedge plant as the source of Kangaroo Island propolis rich in prenylated p-coumarate ester and stilbenes. *Phytochemistry*. 134. 87-97.
- Feás, X. – Pacheco, L. – Iglesias, A. – Estevinho, L.M.: 2014. Use of propolis in the sanitization of lettuce. *International Journal of Molecular Sciences*. 15. 12243-12257.
- Franchin, M. – Freires, I.A. – Lazarini, J.G. – Nani, B.D. – da Cunha, M.G. – Colón, D.F. – de Alencar, S.M. – Rosalen, P.L.: 2018. The use of Brazilian propolis for discovery

and development of novel anti-inflammatory drugs. *European Journal of Medical Chemistry*. 153. 49-55.

- Freires, I.A. – Queiroz, V.C.P.P. – Furletti, V.F. – Ikegaki, M. – de Alencar, S.M. – Duarte, M.C.T. – Rosalen, P.L.: 2016. Chemical composition and antifungal potential of Brazilian propolis against *Candida* spp. *Journal de Mycologie Medicale*. 26. (2): 122-132.
- Freitas, A.S. – Cunha, A. – Cardoso, S.M. – Oliveira, R. – Almeida-Aguiar, C.: 2018. Constancy of the bioactivities of propolis samples collected on the same apiary over four years. *Food Research International*. 119. 622-633.
- Galbács, G. – Galbács, Z., – Sipos, P.: 2008. *Műszeres analitikai kémiai gyakorlatok*. JATEPress, Szeged.
- Galeotti, F. – Maccari, F. – Fachini, A. – Volpi, N.: 2018. Chemical composition and antioxidant activity of propolis prepared in different forms and in different solvents useful for finished products. *Foods*. 7. (3): 41.
- Galgano, F. – Favati, F. – Caruso, M. – Scarpa, T. – Palma, A.: 2008. Analysis of trace elements in southern Italian wines and their classification according to provenance. *LWT – Food Science and Technology*. 41. 1808-1815.
- Gates, P.J. – Lopes, N.P.: 2012. Characterisation of flavonoid aglycones by negative ion chip-based nanospray tandem mass spectrometry. *International Journal of Analytical Chemistry*. 2012. 7.
- Geana, I. – Iordache, A. – Ionete, R. – Marinescu, A. – Ranca, A. – Culea, M.: 2013. Geographical origin identification of Romanian wines by ICP-MS elemental analysis. *Food Chemistry*. 138. 1125-1134.
- Gérez, N. – Pérez-Parada, A. – Cesio, M.V. – Heinzen, H.: 2017. Occurrence of pesticide residues in candies containing bee products. *Food Control*. 72. 293-299.
- Ghisalberti, E.: 1979. Propolis: a review. *Bee World*. 60. (2): 59-84.
- Giraud, A. – Grassi, S. – Savorani, F. – Gavoci, G. – Casiraghi, E. – Geobaldo, F.: 2019. Determination of the geographical origin of green coffee beans using NIR spectroscopy and multivariate data analysis. *Food Control*. 99. 137-145.
- Golubkina, N.A. – Sheshnitsan, S.S. – Kapitalchuk, M.V. – Erdenotsogt, E.: 2016. Variations of chemical element composition of bee and beekeeping products in different taxons of the biosphere. *Ecological Indicators*. 66. 452-457.
- Gong, S. – Luo, L. – Gong, W. – Gao, Y. – Xie, M.: 2012. Multivariate analyses of element concentrations revealed the groupings of propolis from different regions in China. *Food Chemistry*. 134. 583-588.
- González Rodríguez, E. – Blázquez Abellán, G. – Orzáez Villanueva, M.T.: 1999. Macroelements in dietetic products containing propolis. *Food Chemistry*. 66. 15-19.

- González, R. – Ramirez, D. – Rodriguez, S. – González, A. – Ancheta, O. – Merino, N. – Pascual, C.: 1994. Hepatoprotective effects of propolis extract on paracetamol-induced liver damage in mice. *Phytotherapy Research*. 8. 229-232.
- González-Martín, M.I. – Escuredo, O. – Revilla, I. – Vivar-Quintana, A.M. – Coello, M.C. – Riocerezo, C.P. – Moncada, G.W.: 2015. Determination of the mineral composition and toxic element contents of propolis by near infrared spectroscopy. *Sensors*. 15. 27854-27868.
- González-Martín, M. – Revilla, I. – Betances-Salcedo, E. – Vivar-Quintana, A.: 2018. Pesticide residues and heavy metals in commercially processed propolis. *Microchemical Journal*. 143. 423-429.
- Guimaraes, N.S. – Mello, J.C. – Paiva, J.S. – Bueno, P.C. – Berretta, A.A. – Torquato, R.J. – Nantes, I.L. – Rodrigues, T.: 2012. *Baccharis dracunculifolia*, the main source of green propolis, exhibits potent antioxidant activity and prevents oxidative mitochondrial damage. *Food and Chemical Toxicology*. 50. 1091-1097.
- Gupta, R.K. – Khan, M.S. – Srivastava, R.M. – Goswami, V.: 2014. History of Beekeeping in Developing World. [in: Gupta, R.K. – Reybroeck, W. – van Veen, J.W. – Gupta, A (szerk): *Beekeeping for poverty alleviation and livelihood security*. Vol. 1: *Technological Aspects of Beekeeping*.] Springer. 3-62.
- Halmágyi, L. – Keresztesi, B.: 1991. *A méhlegelő*. Akadémiai Kiadó, Budapest.
- Hausen, B. – Wollenweber, E. – Senff, H. – Post, B.: 1987. Propolis allergy: (I). Origin, properties, usage and literature review. *Contact Dermatitis*. 17. (3): 163-170.
- Havsteen, B.H.: 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology and Therapeutics*. 96, (2-3): 67-202.
- Henshaw, F.R. – Bolton, T. – Nube, V. – Hood, A. – Veldhoen, D. – Pfrunder, L. – McKew, G.L. – Macleod, C. – McLennan, S.V. – Twigg, S.M.: 2014. Topical application of the bee hive protectant propolis is well tolerated and improves human diabetic foot ulcer healing in a prospective feasibility study. *Journal of Diabetes and its Complications*. 28. 850-857.
- Horvai, Gy.: 2001. *Sokváltozós adatelemzés (kemometria)*. Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest.
- Huo, Y. – Kamal, G.M. – Wang, J. – Liu, H. – Zhang, G. – Hu, Z. – Anwar, F. – Du, H.: 2017. ¹H NMR-based metabolomics for discrimination of rice from different geographical origins of China. *Journal of Cereal Science*. 76. 243-252.
- Isidorov, V.A. – Bakier, S. – Pirožnikow, E. – Zambrzycka, M. – Swiecicka, I.: 2016. Selective behaviour of honeybees in acquiring European propolis plant precursors. *Journal of Chemical Ecology*. 42. (6): 475-485.

- Joebstl, D. – Bandoniene, D. – Meisel, T. – Chatzistathis, S.: 2010. Identification of the geographical origin of pumpkin seed oil by the use of rare earth elements and discriminant analysis. *Food Chemistry*. 123. 1303-1309.
- Juranović Cindrić, I. – Zeiner, M. – Mihajlov Konanov, D. – Stingeder, G.: 2015. Metal characterization of white hawthorn organs and infusions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 63. (6): 1798-1802.
- Kai, H. – Obuchi, M. – Yoshida, H. – Watanabe, W. – Tsutsumi, S. – Park, Y.K. – Matsuno, K. – Yasukawa, K. – Kurokawa, M.: 2014. *In vitro* and *in vivo* anti-influenza virus activities of flavonoids and related compounds as components of Brazilian propolis (AF-08). *Journal of Functional Foods*. 8. 214-223.
- Kalogeropoulos, N. – Konteles, S.J. – Troullidou, E. – Mourtzinis, I. – Karathanos, V.T.: 2009. Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus. *Food Chemistry*. 116. 452-461.
- Knapp, G. – Schramel, P.: 2003. Sources of analyte contamination and loss during the analytical process. [in: Mester Z. – Sturgeon R.: *Sample Preparation for Trace Element Analysis*.] Elsevier B. V. Amsterdam. 23-45.
- Kim, J.S. – Hwang, I.M. – Lee, G.H. – Park, Y.M. – Choi, J.Y. – Jamila, N. – Khan, N. – Kim, K.S.: 2017. Geographical origin authentication of pork using multi-element and multivariate data analyses. *Meat Science*. 123. 13-20.
- König, B.: 1985. Plant sources of propolis. *Bee World*. 66. (4): 136-139.
- Kovács, E.: 2014. *Többváltozós adatelemzés*. Typotex. Budapest.
- KSH. 2012. A méhészet, méztermelés helyzete és lehetőségei, különös tekintettel Észak-Magyarország megyéire. 1-15.
- KSH. 2013. Az erdőgazdálkodás jellemzői. *Statisztikai tükör*. 95. 1-6.
- Kujumgiev, A. – Tsvetkova, I. – Serkedjieva, Y. – Bankova, V. – Christov, R. – Popov, S.: 1999. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *Journal of Ethnopharmacology*. 64. 235-240.
- Kumazawa, S. – Hamasaka, T. – Nakayama, T.: 2004. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry*. 84. 329-339.
- Lasanta, C. – Gómez, J.: 2012. Tartrate stabilization of wines. *Trends in Food Science and Technology*. 28. 52-59.
- Lee, D. – Yoon, M.H. – Kang, Y.P. – Yu, J. – Park, J.H. – Lee, J. – Kwon, S.W.: 2013. Comparison of primary and secondary metabolites for suitability to discriminate the origins of *Schisandra chinensis* by GC/MS and LC/MS. *Food Chemistry*. 141. 3931-3937.

- Lima, B. – Tapia, A. – Luna, L. – Fabani, M.P. – Schmeda-Hirschmann, G. – Podio, N.S. – Wunderlin, D.A. – Feresin, G.E.: 2009. Main flavonoids, DPPH activity, and metal content allow determination of the geographical origin of propolis from the Province of San Juan (Argentina). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57. 2691-2698.
- Lotfy, M.: 2006. Biological activity of bee propolis in health and disease. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 7. 22-31.
- Luykx, D.M.A.M. – van Ruth, S.M.: 2008. An overview of analytical methods for determining the geographical origin of food products. *Food Chemistry*. 107. 897-911.
- Machado, B.A.S. – Silva, R.P.D. – de Abreu Barreto, G. – Costa, S.S. – da Silva, D.F. – Brandão, H.N. – da Rocha, J.L.C. – Dellagostin, O.A. – Henriques, J.A.P. – Umszaguez, M.A – Padilha, F.F.: 2016. Chemical composition and biological activity of Extracts obtained by supercritical extraction and ethanolic extraction of brown, green and Red Propolis derived from different geographic regions in Brazil. *PloS One* 11. (1): e0145954.
- Madejczyk, M. – Baralkiewicz, D.: 2008. Characterization of Polish rape and honeydew honey according to their mineral contents using ICP-MS and F-AAS/AES. *Analitica Chimica Acta*. 617. 11-17.
- Madras-Majewska, B. – Jasinski, Z.: 2003. Lead content of bees, brood and bee products from different regions of Poland. *Journal of Apicultural Science*. 47. (2): 47-55.
- Magdas, D.A. – Feher, I. – Cristea, G. – Voica, C. – Tabaran, A. – Mihaiu, M. – Cordea, D.V. – Bâlțeanu, V.A. – Dan, S.D.: 2019. Geographical origin and species differentiation of Transylvanian cheese. Comparative study of isotopic and elemental profiling vs. DNA results. *Food Chemistry*. 277. 307-313.
- Malandrino, M. – Giacomino, A. – Abollino, O. – Allio, A. – Toniolo, R. – Colombo, M.L.: 2015. Determination of major, minor and trace elements in Glyceric Macerates and Mother Tinctures and in the starting plant materials. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 106, 167-178.
- Marcucci, M.C.: 1995. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*. 26. 83-99.
- Martin, A.E. – Watling, R.J. – Lee, G.S.: 2012. The multi-element determination and regional discrimination of Australian wines. *Food Chemistry*. 133. 1081-1089.
- Matin, G. – Kargar, N. – Buyukisik, H.B.: 2016. Bio-monitoring of cadmium, lead, arsenic and mercury in industrial districts of Izmir, Turkey by using honey bees, propolis and pine tree leaves. *Ecological Engineering*. 90. 331-335.
- Matos-Reyes, M. – Simonot, J. – López-Salazar, O. – Cervera, M. – de la Guardia, M.: 2013. Authentication of Alicante's Mountain cherries protected designation of origin by their mineral profile. *Food Chemistry*. 141. 2191-2197.

- Miguel, M.G. – Nunes, S. – Dandlen, S.A. – Cavaco, A.M. – Antunes, M.D.: 2010. Phenols and antioxidant activity of hydro-alcoholic extracts of propolis from Algarve, South of Portugal. *Food and Chemical Toxicology*. 48. 3418-3423.
- Mihai, C.M. – Mărghitaş, L.A. – Dezmirean, D.S. – Chirilă, F. – Moritz, R.F. – Schlüns, H.: 2012 Interactions among flavonoids of propolis affect antibacterial activity against the honeybee pathogen *Paenibacillus larvae*. *Journal of Invertebrate Pathology*. 110, 68-72.
- Mohammadzadeh, S. – Sharriatpanahi, M. – Hamed, M. – Amanzadeh, Y. – Sadat Ebrahimi, S.E. – Ostad, S.N.: 2007. Antioxidant power of Iranian propolis extract. *Food Chemistry*. 103. 729-733.
- Molnár Sz. – Mikuska K. – Patonay K. – Sisa K. – Daood, H.G. – Némedi E. – Kiss A.: 2017. Comparative studies on polyphenolic profile and antimicrobial activity of propolis samples selected from distinctive geographical areas of Hungary. *Food Science and Technology International*. 23. (5): 349-357.
- Moţ, A.C. – Soponar, F. – Sârbu, C.: 2010. Multivariate analysis of reflectance spectra from propolis: geographical variation in Romanian samples. *Talanta*. 81. 1010-1015.
- Münstedt, K. – Kalder, M.: 2009. Contact allergy to propolis in beekeepers. *Allergologia et Immunopathologia*. 37. 298-301.
- Murphy, T.: 1976. The role of the analytical blank in accurate trace analysis. [in: LaFleur, P.D. (szerk): *Accuracy in Trace Analysis: Sampling, Sample Handling, and Analysis.*] National Bureau of Standards, Gaithersburg, MD, 509-539.
- Nagai, T. – Inoue, R. – Inoue, H. – Suzuki, N.: 2003. Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis. *Food Chemistry*. 80. 29-33.
- Nagy, É. – Pápay, V. – Litkei, G. – Dinya, Z.: 1986. Investigation of the chemical constituents, particularly the flavonoid components of propolis and *Populi gemma* by the GC/MS method. [in: Farkas, L. – Gábor, M. – Kállay F. (szerk): *Flavonoids and bioflavonoids: Proceedings of the 7. Hungarian Bioflavonoid Symposium*] Szeged, 223-232.
- Naito, Y. – Yasumuro, M. – Kondou, K. – Ohara, N.: 2007. Antiinflammatory effect of topically applied propolis extract in carrageenan-induced rat hind paw edema. *Phytotherapy Research*. 21. 452-456.
- Necemer, M. – Kosir, I.J. – Kump, P. – Kropf, U. – Jamnik, M. – Bertoneclj, J. – Ogrinc, N. – Golob, T.: 2009. Application of total reflection X-ray spectrometry in combination with chemometric methods for determination of the botanical origin of Slovenian honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57. 4409-4414.
- Nna, V.U. – Bakar, A.B.A. – Lazin, M.R.M.L.M. – Mohamed, M.: 2018. Antioxidant, anti-inflammatory and synergistic anti-hyperglycemic effects of Malaysian propolis and metformin in streptozotocin-induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology*. 120. 305-320.

- Nolkemper, S. – Reichling, J. – Sensch, K.H. – Schnitzler, P.: 2010. Mechanism of herpes simplex virus type 2 suppression by propolis extracts. *Phytomedicine*. 17. 132-138.
- Ocvirk, M. – Nečemer, M. – Košir, I.J.: 2019. The determination of the geographic origins of hops (*Humulus lupulus* L.) by multi-elemental fingerprinting. *Food Chemistry*. 277. 32-37.
- Oda, H. – Nakagawa, T. – Maruyama, K. – Dono, Y. – Katsuragi, H. – Sato, S.: 2016. Effect of Brazilian green propolis on oral pathogens and human periodontal fibroblasts. *Journal of Oral Biosciences*. 58. (2): 50-54.
- Orsi, R.O. – Funari, S.R.C. – Barbattini, R. – Giovani, C. – Frilli, F. – Sforcin, J.M. – Bankova, V.: 2006. Radionuclides in honeybee propolis (*Apis mellifera* L.). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 76. 637-640.
- Oryan, A. – Alemzadeh, E. – Moshiri, A.: 2018. Potential role of propolis in wound healing: Biological properties and therapeutic activities. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 98. 469-483.
- Osés, S. – Pascual-Maté, A. – Fernández-Muiño, M. – López-Díaz, T. – Sancho, M.: 2016. Bioactive properties of honey with propolis. *Food Chemistry*. 196. 1215-1223.
- Özcan, M.: 2005. Determination of mineral contents of Turkish herbal tea (*Salvia aucheri* var. *canescens*) at different infusion periods. *Journal of Medicinal Food*. 8. (1): 110-112.
- Ozsváth, K. – Ács, P.: 2011. Bevezetés a sporttudományos kutatásba. Dialóg Campus kiadó.
- Pais, I.: 1999. A mikroelemek jelentősége az életben. Mezőgazda Kiadó Budapest.
- Palacios-Morillo, A. – Jurado, J. – Alcázar, A. – Pablos, F.: 2016. Differentiation of Spanish paprika from Protected Designation of Origin based on color measurements and pattern recognition. *Food Control*. 62. 243-249.
- Pápay, V. – Soltész, M. – Csizmadia, B. – Tóth, L.: 1987. Chemical and pharmacological study of propolis samples from various locations. *Acta Pharmaceutica Hungarica*. 57. (3-4): 143-151.
- Park, Y.K. – Alencar, S.M. – Aguiar, C.L.: 2002. Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50. 2502-2506.
- Paul, A. – Laurila, T. – Vuorinen, V. – Divinski, S.V.: 2014. Thermodynamics, Diffusion and the Kirkendall Effect in Solids. Springer.
- Peycheva, S. – Apostolova, E. – Gardjeva, P. – Peychev, Z. – Kokova, V. – Angelov, A. – Slavov, A. – Murdjeva, M.: 2018. Effect of Bulgarian propolis on the oral microflora in adolescents with plaque-induced gingivitis. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. In Press.

- Pierini, G.D. – Pistonesi, M.F. – Di Nezio, M.S. – Centurión, M.E.: 2016. A pencil-lead bismuth film electrode and chemometric tools for simultaneous determination of heavy metals in propolis samples. *Microchemical Journal*. 125. 266-272.
- Pierini, G.D. – Granero, A.M. – Di Nezio, M.S. – Centurión, M.E. – Zon, M.A. – Fernández, H.: 2013. Development of an electroanalytical method for the determination of lead in Argentina raw propolis based on bismuth electrodes. *Microchemical Journal*. 106. 102-106.
- Pilgrim, T.S. – Watling, R.J. – Grice, K.: 2010. Application of trace element and stable isotope signatures to determine the provenance of tea (*Camellia sinensis*) samples. *Food Chemistry*. 118. 921-926.
- Pobiega, K. – Kraśniewska, K. – Gniewosz, M.: 2018. Application of propolis in antimicrobial and antioxidative protection of food quality—A review. *Trends in Food Science and Technology*. 83. 53-62.
- Pohl, F.: 2005. Méhészet – A nektárgyűjtéstől a finom és egészséges mézig. Holló és Társa Kft., Budapest.
- Pontin, K. – Da Silva Filho, A.A. – Santos, F.F. – e Silva, M.L. – Cunha, W.R. – Nanayakkara, N.D. – Bastos, J.K. – de Albuquerque, S.: 2008. *In vitro* and *in vivo* antileishmanial activities of a Brazilian green propolis extract. *Parasitology Research*. 103. 487-492.
- Popova, M. – Lazarova, H. – Trusheva, B. – Popova, M. – Bankova, V. – Mihály J. – Najdenski, H. – Tsvetkova, I. – Szegedi Á.: 2018. Nanostructured silver silica materials as potential propolis carriers. *Microporous and Mesoporous Materials*. 263. 28-33.
- Popova, M.P. – Bankova, V.S. – Bogdanov, S. – Tsvetkova, I. – Naydenski, C. – Marcazzan, G.L. – Sabatini, A.: 2007. Chemical characteristics of poplar type propolis of different geographic origin. *Apidologie*. 38. (3): 306-311.
- Pytlakowska, K. – Kita, A. – Janoska, P. – Połowniak, M. – Kozik, V.: 2012. Multi-element analysis of mineral and trace elements in medicinal herbs and their infusions. *Food Chemistry*. 135. (2): 494-501.
- Ramanauskienė, K. – Inkenienė, A.M. – Petrikaite, V. – Briedis, V.: 2013. Total phenolic content and antimicrobial activity of different lithuanian propolis solutions. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013. 842985.
- Rashmi, D. – Shree, P. – Singh, D.K.: 2017. Stable isotope ratio analysis in determining the geographical traceability of Indian wheat. *Food Control*. 79. 169-176.
- Rédei, K.: 2000. Early performance of promising white poplar (*Populus alba*) clones in sandy ridges between the rivers Danube and Tisza in Hungary. *Forestry*. 73. (4): 407-413.

- Richter, R.C. – Nóbrega, J.A. – Pirola, C.: 2016. Think Blank: Clean Chemistry Tools for Atomic Spectroscopy. IKONOS srl.
- Richter, R.C. – Pirola, C.: 2017. Microwave Green Extraction – Modernizing Trace Organic Analysis. IKONOS srl.,
- Rizzolo, A. – Bianchi, G. – Povolo, M. – Migliori, C.A. – Contarini, G. – Pelizzola, V. – Cattaneo, T.M.: 2016. Volatile compound composition and antioxidant activity of cooked ham slices packed in propolis-based active packaging. *Food Packaging and Shelf Life*. 8. 41-49.
- Roman, A. – Madras-Majewska, B. – Popiela-Pleban, E.: 2011. Comparative study of selected toxic elements in propolis and honey. *Journal of Apicultural Science*. 55. (2): 97-106.
- Sadhana, N. – Lohidasan, S. – Mahadik, K. R.: 2017. Marker-based standardization and investigation of nutraceutical potential of Indian propolis. *Journal of Integrative Medicine*. 15. (6): 483–494.
- Saftić, L. – Peršurić, Ž, Fornal, E. – Pavlešić, T. – Pavelić, S.K.: 2019. Targeted and untargeted LC-MS polyphenolic profiling and chemometric analysis of propolis from different regions of Croatia. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 165. 162-172.
- Sajtos, L.: 2007a. Varianciaelemzés. [in: Sajtos L. - Mitev A.: SPSS Kutatási és adatelemzési kézikönyv.] Alinea kiadó, Budapest. 163-202.
- Sajtos, L.: 2007b. Diszkriminanciaelemzés és logisztikus regresszió. [in: Sajtos L. - Mitev A.: SPSS Kutatási és adatelemzési kézikönyv.] Alinea kiadó, Budapest. 329-366.
- Sales, A. – Alvarez, A. – Areal, M.R. – Maldonado, L. – Marchisio, P. – Rodríguez, M. – Bedascarrasbure, E.: 2006. The effect of different propolis harvest methods on its lead contents determined by ET AAS and UV–visS. *Journal of Hazardous Materials*. A137. 1352-1356.
- Santini, A. – Novellino, E.: 2018. Nutraceuticals-shedding light on the grey area between pharmaceuticals and food. *Journal Expert Review of Clinical Pharmacology*. 11. (6): 545–547.
- Santos, V. – Pimenta, F. – Aguiar, M. – do Carmo, M. – Naves, M. – Mesquita, R.: 2005. Oral candidiasis treatment with Brazilian ethanol propolis extract. *Phytotherapy Research*. 19. 652-654.
- Sârbu, C. – Moț, A.C.: 2011. Ecosystem discrimination and fingerprinting of Romanian propolis by hierarchical fuzzy clustering and image analysis of TLC patterns. *Talanta*. 85. 1112-1117.
- Sayago, A. – González-Domínguez, R. – Beltrán, R. – Fernández-Recamales, Á.: 2018. Combination of complementary data mining methods for geographical

characterization of extra virgin olive oils based on mineral composition. *Food Chemistry*. 261. 42-50.

Selvaraj, S. – Krishnaswamy, S. – Devashya, V. – Sethuraman, S. – Krishnan, U.M.: 2014. Flavonoid–metal ion complexes: a novel class of therapeutic agents. *Medicinal Research Reviews*. 34. (4): 677-702.

Sforcin, J.M. – Fernandes Jr., A. – Lopes, C.A.M. – Bankova, V. – Funari, S.R.C.: 2000. Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 73. 243-249.

Shavisi, N. – Khanjari, A. – Basti, A.A. – Misaghi, A. – Shahbazi, Y.: 2017. Effect of PLA films containing propolis ethanolic extract, cellulose nanoparticle and *Ziziphora clinopodioides* essential oil on chemical, microbial and sensory properties of minced beef. *Meat Science*. 124. 95-104.

Simone-Finstrom, M. – Borba, R.S. – Wilson, M. – Spivak, M.: 2017. Propolis counteracts some threats to honey bee health. *Insects*. 8. 46.

Simone-Finstrom, M. – Spivak, M.: 2010. Propolis and bee health: the natural history and significance of resin use by honey bees. *Apidologie*. 41. (3): 295-311.

Singleton, V.L. – Orthofer, R. – Lamuela-Raventós, R.M.: 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 299. 152-178.

Siripatrawan, U. – Vitchayakitti, W.: 2016. Improving functional properties of chitosan films as active food packaging by incorporating with propolis. *Food Hydrocolloids*. 61. 695-702.

Slavov, A. – Trifonov, A. – Peychev, L. – Dimitrova, S. – Peycheva, S. – Gotcheva, V. – Angelov, A.: 2013. Biologically active compounds with antitumor activity in propolis extracts from different geographic regions. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 27. (4): 4010-4013.

Soós Á. – Tóth N. – Bódi É. – Várallyay Sz. – Molnár Sz. – Kovács B.: 2018. The effect of the preparation method on the physical and chemical characteristics of propolis tinctures. *Acta Agraria Debreceniensis*. 74. 163-168.

Soós Á. – Bódi É. – Várallyay Sz. – Molnár Sz. – Kovács B.: 2019. Mineral content of propolis tinctures in relation to the extraction time and the ethanol content of the extraction solvent. *LWT – Food Science and Technology*. 111. 719-726.

Spink, J. – Hegarty, P.V. – Fortin, N.D. – Elliott, C.T. – Moyer, D.C.: 2019. The application of public policy theory to the emerging food fraud risk: Next steps. *Trends in Food Science and Technology*. 85. 116-128.

Sun, S. – Guo, B. – Wei, Y. – Fan, M.: 2011. Multi-element analysis for determining the geographical origin of mutton from different regions of China. *Food Chemistry*. 124. (3): 1151-1156.

- Székelyi M. – Barna I.: 2002. Túlélőkészlet az SPSS-hez. Budapest: Typotex Kiadó.
- Szpunar, J. – Lobinski, R.: 2003. Hyphenated Techniques in Speciation Analysis. Royal Society of Chemistry. Cambridge, UK.
- Szymczycha-Madeja, A. – Welna, M. – Pohl, P.: 2012. Elemental analysis of teas and their infusions by spectrometric methods. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 35. 165-181.
- Takeda, K. – Nagamatsu, K. – Okumura, K.: 2018. A water-soluble derivative of propolis augments the cytotoxic activity of natural killer cells. *Journal of Ethnopharmacology*. 218. 51-58.
- Techer, I. – Medini, S. – Janin, M. – Arregui, M.: 2017. Impact of agricultural practice on the Sr isotopic composition of food products: Application to discriminate the geographic origin of olives and olive oil. *Applied Geochemistry*. 82. 1-14.
- Tosun, M.: 2013. Detection of adulteration in honey samples added various sugar syrups with $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotope ratio analysis method. *Food Chemistry*. 138. (2-3): 1629-1632.
- Tylkowski, B. – Trusheva, B. – Bankova, V. – Giamberini, M. – Peev, G. – Nikolova, A.: 2010. Extraction of biologically active compounds from propolis and concentration of extract by nanofiltration. *Journal of Membrane Science*. 348. (1-2): 124-130.
- Tzankova, V. – Aluani, D. – Yordanov, Y. – Kondeva-Burdina, M. – Petrov, P. – Bankova, V. – Simeonova, R. – Vitcheva, V. – Odjakov, F. – Apostolov, A. – Tzankov, B. – Yoncheva, K.: 2019. Micellar propolis nanoformulation of high antioxidant and hepatoprotective activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. In Press.
- Valencia, D. – Alday, E. – Robles-Zepeda, R. – Garibay-Escobar, A. – Galvez-Ruiz, J.C. – Salas-Reyes, M. – Jiménez-Estrada, M. – Velazquez-Contreras, E. – Hernandez, J. – Velazquez, C.: 2012. Seasonal effect on chemical composition and biological activities of Sonoran propolis. *Food Chemistry*. 131. 645-651.
- Wang, K. – Zhang, J. – Ping, S. – Ma, Q. – Chen, X. – Xuan, H. – Shi, J. – Zhang, C. – Hu, F.: 2014. Anti-inflammatory effects of ethanol extracts of Chinese propolis and buds from poplar (*Populus × canadensis*). *Journal of Ethnopharmacology*. 155. 300-311.
- Wang, S. – Guo, Q. – Wang, L. – Lin, L. – Shi, H. – Cao, H. – Cao, B.: 2015. Detection of honey adulteration with starch syrup by high performance liquid chromatography. *Food Chemistry*. 172. 669-674.
- Yang, S. – Peng, L. – Su, X. – Chen, F. – Cheng, Y. – Fan, G. – Pan, S.: 2011. Bioassay-guided isolation and identification of antifungal components from propolis against *Penicillium italicum*. *Food Chemistry*. 127. 210-215.
- Yeung, Y.T. – Argüelles, S.: 2019. Chapter 4.1 – Bee Products: Royal Jelly and Propolis. [in: Nabavi, S.M. – Silva, A.S. (szerk.): Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements.] Academic Press. 475-484.

Zhang, P. – Fu, L. – Xie, H.L.: 2015. Direct Determination of Heavy Metal Elements in Propolis by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi*. 35. (10): 2878-2881.

Zhishen, J. – Mengcheng, T. – Jianming, W.: 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*. 64. (4): 555-559.

Zhu, L. – Sun, J. – Wu, G. – Wang, Y. – Zhang, H. – Wang, L. – Qian, H. – Qi, X.: 2018. Identification of rice varieties and determination of their geographical origin in China using Raman spectroscopy. *Journal of Cereal Science*. 82. 175-182.

Ziółkowska, A. – Wąsowicz, E. – Jeleń, H.H.: 2016. Differentiation of wines according to grape variety and geographical origin based on volatiles profiling using SPME-MS and SPME-GC/MS methods. *Food Chemistry*. 213. 714-720.

Internetes források:

Lytchettbayapiarie: <https://lytchettbayapiaries.com/2018/04/23/propolis-bee-glue/>
(2019.02.01.)

Beepotherapy: <https://beepothecary.wordpress.com/2013/04/17/how-we-make-propolis-oil-and-tincture/comment-page-1/> (2019.01.15.)

Healthywithhoney: <https://healthywithhoney.com/how-to-make-propolis-tincture/>
(2019.01.15.)

Propolisz: <http://www.propolisz.com/termekek/propolisz-tinktura/> (2019.01.15.)

Propoliszcsepp: <http://www.propoliszcsepp.com/propolisz-tinktura/> (2019.01.15.)

Házimanufaktúra: <http://hazimanufaktura.blogspot.hu/2015/02/propolisz-tinktura-keszitesi-hazilag.html> (2019.01.15.)

Melora: https://melora.com.hk/index.php?route=product/product&product_id=1093
(2019.01.30.)

Bjornscoloradohoney: <https://bjornscoloradohoney.com/products/propolis-honey>
(2019. 01.30.)

Bee-enhanced: <https://bee-enhanced.co.uk/product/propolis-tincture/> (2019.01.30.)

Beehealthyfarms: <https://beehealthyfarms.com/propolis/33-bee-propolis-capsules-500mg.html> (2019.01.30.)

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretném kifejezni köszönömet témavezetőmnek, **Prof. Dr. Kovács Béla** egyetemi tanárnak, amiért biztosította számomra a kutatásom elvégzéséhez szükséges feltételeket, de ezen felül az idejét rám szánva értékes szakmai tanácsaival és biztató szavaival segítette az értekezés elkészülését. Mindig a szakmai fejlődésemet tekintve szem előtt, támogatta ismereteim folyamatos bővítését.

Köszönettel tartozom opponenseimnek, **Dr. Béni Áron** adjunktusnak és **Dr. Murányi Zoltán** főiskolai tanárnak a disszertáció végleges formába alakításában nyújtott segítségükért és áldozatos munkájukért.

Köszönöm az **Országos Magyar Méhészeti Egyesület** közreműködését, valamint a **méhészek** segítségét a nyers propoliszok begyűjtése kapcsán. Hálás vagyok **Molnár Szabolcsnak**, amiért rendelkezésemre bocsátotta a begyűjtött nyers propolisz mintákat.

Köszönettel tartozom **Andrási Dávidnak**, aki segített elindulni a műszeres mérési módszerek elsajátításában, az analitikai készülékek megismerésében, és megszerettette velem ezt a területet.

Hálás vagyok **Nyeste Erikának**, amiért segítségemre volt a propolisz minták előkészítése során, valamint észrevételeivel szintén hozzájárult dolgozatom jobbá tételéhez.

Köszönöm a témavezetőtjeim, **Reichenbach Réka**, **Tóth Nikoletta** és **Szegő Réka** mintaelőkészítésben nyújtott segítségét.

Köszönöm korábbi PhD hallgató társaimnak, **Dr. Várallyay Szilviának** és **Bacs kainé Dr. Bódi Évának** a készséges segítségét és biztatását a kutatómunkám során.

Köszönöm **Családomnak** a tanulmányaim alatt nyújtott segítségüket, megértésüket, türelmüket és önzetlen támogatásukat.

Köszönöm!



Az Emberi Erőforrások Minisztériuma Új Nemzeti Kiválóság Programjának támogatásával készült.



Nyilvántartási szám: DEENK/29/2020.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Soós Áron
Neptun kód: DBIVSW
Doktori Iskola: Kerpely Kálmán Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10055249

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

Magyar nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (4)

1. **Soós, Á.**, Reichenbach, R., Várallyay, S., Bódi, É., Kovács, B.: Pest, Zala és Bács-Kiskun megyékből származó propolisz minták elemtartalmi összetétele.
Agrártud. Közl. 72, 149-153, 2017. ISSN: 1587-1282.
2. **Soós, Á.**, Várallyay, S., Kovács, B.: Hazai kékfrankos borok toxikus elem koncentrációja.
Agrártud. Közl. 68, 87-90, 2016. ISSN: 1587-1282.
3. **Soós, Á.**, András, D., Kovács, B.: Folyékony élelmiszerminták destruktív minta-előkészítést nem igénylő nyomelemtartalom-meghatározási lehetőségei induktív csatolású plazma tömegspektrométerrel.
Élelmvizsg. Közl. 60 (2), 178-189, 2014. ISSN: 0422-9576.
4. **Soós, Á.**, András, D., Kovács, B.: Belső sztenderdek alkalmazhatósága élelmiszerek induktív csatolású plazma tömegspektrometriás mikroelem-tartalmának vizsgálatában.
Élelmvizsg. Közl. 59 (3), 106-119, 2013. ISSN: 0422-9576.

Idegen nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (1)

5. **Soós, Á.**, Tóth, N., Bódi, É., Várallyay, S., Molnár, S., Kovács, B.: The effect of the preparation method on the physical and chemical characteristics of propolis tinctures.
Agrártud. Közl. 74, 163-168, 2018. ISSN: 1587-1282.
DOI: <http://dx.doi.org/https://doi.org/10.34101/actaagrar/74/1683>

Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (1)

6. **Soós, Á.**, Bódi, É., Várallyay, S., Molnár, S., Kovács, B.: Mineral content of propolis tinctures in relation to the extraction time and the ethanol content of the extraction solvent.
LWT-Food Sci. Technol. 111, 719-726, 2019. ISSN: 0023-6438.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.090>
IF: 3.714 (2018)





Magyar nyelvű konferencia közlemények (1)

7. **Soós, Á.**, Reichenbach, R., Várallyay, S., Bódi, É., Molnár, S., Kovács, B.: Kis mennyiségű propolisz minták előkészítése és mérése ICP-OES és ICP-MS technikákkal.
In: Magyar Spektrokémia vándorgyűlés és XIII. Környezetvédelmi Analitikai és Technológiai Konferencia. Debrecen, 2017. 08. 23-25 : Program és előadás összefoglalók, [Debreceni Egyetem], [Debrecen], 113-116, 2017.

Idegen nyelvű konferencia közlemények (1)

8. **Soós, Á.**, András, D., Kovács, B.: Evaluation of internal standards and calibration methods in measurement of micro-elements in wines with direct analysis by ICP-MS.
In: 28th ISMAS Symposium cum Workshop on Mass Spectrometry. Ed.: S. K. Aggarwal, P. G. Jaison, Arnab Sarkar, Prudent Arts & FAb Private Limited, Mumbai, 208-211, 2014. ISBN: 9788190444262

Magyar nyelvű absztrakt kiadványok (3)

9. **Soós, Á.**, András, D., Kovács, B.: Mátrixillesztés és belső standard vizsgálata borok direkt mintabevitelű mikroelem-tartalom meghatározására, induktív csatolású plazma tömegspektrométerrel.
In: XXXVI. Kémiai Előadói Napok: Program és előadás-összefoglalók. Szerk.: Endrődi Balázs, Laufer Noémi, JATEPress - Szegedi Egyetemi Kiadó, Szeged, 58-59, 2013. ISBN: 9789633151457
10. **Soós, Á.**, András, D., Kovács, B.: Mikroelemtartalom-meghatározási módszer kidolgozása borra, direkt mintabevitel esetén, multielemes ICP-MS mérésnél. Utánközlés párhuzamos közlés,
In: XI. Környezetvédelmi Analitikai és Technológiai Konferencia. Program és előadás-összefoglalók. Szerk.: Princz Péter, Magyar Kémikusok Egyesülete, Hajdúszoboszló, 57, 2013. ISBN: 9789639970403
11. **Soós, Á.**, András, D., Kovács, B.: Mikroelemtartalom-meghatározási módszer kidolgozása borra, direkt mintabevitel esetén, multielemes ICP-MS mérésnél.
In: A Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság VII. Konferenciája, Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság, Debrecen, 35, 2013.

Idegen nyelvű absztrakt kiadványok (5)

12. **Soós, Á.**, Bódi, É., Várallyay, S., Molnár, S., Kovács, B.: The Element Content of Propolis Tinctures by the Volume of the Extraction Solvent.
In: FSD 2018 3rd Food Structure & Design Conference : Abstract Book. Ed.: Zoltán Győri, Debreceni Egyetem, Debrecen, 41, 2018. ISBN: 9789634900245





13. **Soós, Á.**, Bódi, É., Várallyay, S., Szegő, R., Molnár, S., Kovács, B.: Transfer Coefficient of Minerals from Raw Propolis to Their Tinctures.
In: Scientific researches in food production, University of Debrecen - Proceedings of abstracts. Ed.: Béla Kovács, Nikolett Czipa, Ferenc Peles, Éva Bacskainé Bódi, Andrea Kántor, Flóra Mária Szabóné Petróczi, Loránd Alexa, Debreceni Egyetem, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar, Debrecen, 27, 2018. ISBN: 9789634900412
14. **Soós, Á.**, Bodnár, S., Czipa, N., Kovács, B.: Evaluation of Sample Preparation Techniques for the Measurement of Honey by ICP-MS.
In: Meeting of Young Researchers from V4 Countries : Book of abstracts. Ed.: Monika Wesowska, University of Rzeszow, Rzeszow, 77, 2016.
15. **Soós, Á.**: Elemental analysis of wines by ICP-MS.
In: International Conference for Students : Students in Bucovina Abstracts, Faculty of Food Engineering, Stefan cel Mare University of Suceava, Suceava, Románia, 156, 2015, (ISSN 2068-7648)
16. András, D., **Soós, Á.**, Fekete, I., Kovács, B.: Method development for direct wine analysis by inductively coupled plasma mass spectrometry.
In: EuroFoodChem : Book of abstracts. Ed.: Hamit Köksel, Hacettepe University, Food Engineering Department, Isztambul, 315, 2013. ISBN: 9786056393501

További közlemények

Magyar nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (7)

17. Várallyay, S., Veres, S., Bódi, É., **Soós, Á.**, Kovács, B.: Arzénterhelés hatásvizsgálata a napraforgó fejlődésének korai stádiumában.
Növénytermelés. 67 (3), 95-114, 2018. ISSN: 0546-8191.
18. Várallyay, S., Veres, S., Bódi, É., **Soós, Á.**, Kovács, B.: Eltérő arzénformák hatása a fejlődés korai stádiumában lévő napraforgó növény (*Helianthus annuus L.*) szárazanyag produktumára, valamint foszfor-, kén- és mikroelem-koncentrációjára.
Növénytermelés. 67 (2), 57-73, 2018. ISSN: 0546-8191.
19. Várallyay, S., Balláné Kovács, A., **Soós, Á.**, Kovács, B.: Arzénnal szennyezett talajon termesztett zöldborsó élelmiszer- és takarmánybiztonsági megítélése.
Élelmisz. Közl. 63 (3), 1661-1670, 2017. ISSN: 0422-9576.
20. Papp-Topa, E. A., Nyeste, E., **Soós, Á.**, Bódi, É., Várallyay, S., Czipa, N., Kovács, B.: Egy rektori elképzelés továbbgondolása: egy induktív csatolású plazma optikai emissziós spektrométer optimalítása.
Növénytermelés. 66 (3), 75-94, 2017. ISSN: 0546-8191.





21. Várallyay, S., Balláné Kovács, A., **Soós, Á.**, Kovács, B.: Élelmiszeripari felhasználásra szánt zöldborsó ásványi anyag összetételének vizsgálata növekvő koncentrációjú arzénkezelések függvényében.
Agrártud. Közl. 72, 203-208, 2017. ISSN: 1587-1282.
22. Várallyay, S., Balláné Kovács, A., **Soós, Á.**, Kovács, B.: Arzénkezelés hatása zöldborsó (*Pisum sativum* L.) arzén- és foszforkoncentrációjára, valamint szárazanyag-produktumára.
Agrokém. Talajt. 65 (2), 275-295, 2016. ISSN: 0002-1873.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/0088.2016.65.2.7>
23. Várallyay, S., Szilva, D., **Soós, Á.**, Kovács, B.: Talaj- és növényminta arzéntartalmának meghatározására irányuló minta-előkészítési módszerek összehasonlító vizsgálata.
Agrártud. Közl. 69, 167-170, 2016. ISSN: 1587-1282.

Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (7)

24. Both, E. B., Stonehouse, G. C., Lima, L. W., Fakra, S. C., Aguirre, B., Wangeline, A. L., Xiang, J., Yin, H., Jókai, Z., **Soós, Á.**, Dernovics, M., Pilon-Smits, E. A. H.: Selenium tolerance, accumulation, localization and speciation in a Cardamine hyperaccumulator and a non-hyperaccumulator.
Sci. Total Environ. 703, 1-12, 2020. ISSN: 0048-9697.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135041>
IF: 5.589 (2018)
25. Kolláth, I. S., Molnár, Á. P., **Soós, Á.**, Fekete, E., Sándor, E., Kovács, B., Kubicek, C. P., Karaffa, L.: Manganese Deficiency Is Required for High Itaconic Acid Production From D-Xylose in *Aspergillus terreus*.
Front. Microbiol. 10, 1-10, 2019. EISSN: 1664-302X.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2019.01589>
IF: 4.259 (2018)
26. Sumanszki, C., Kiss, E., Simon, E., Galgóczi, E., **Soós, Á.**, Patócs, A., Kovács, B., Nagy, E. V., Reismann, P.: The Association of Therapy Adherence and Thyroid Function in Adult Patients with Phenylketonuria.
Ann. Nutr. Metab. 75 (1), 16-23, 2019. ISSN: 0250-6807.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1159/000501301>
IF: 3.051 (2018)
27. Molnár, Á. P., Németh, Z., Kolláth, I. S., Fekete, E., Flippi, M., Ág, N., **Soós, Á.**, Kovács, B., Sándor, E., Kubicek, C. P., Karaffa, L.: High oxygen tension increases itaconic acid accumulation, glucose consumption, and the expression and activity of alternative oxidase in *Aspergillus terreus*.
Appl. Microbiol. Biotechnol. 102 (20), 8799-8808, 2018. ISSN: 0175-7598.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-018-9325-6>
IF: 3.67





28. Várallyay, S., Balláné Kovács, A., **Soós, Á.**, Kovács, B.: Effect of different arsenic-treatments on the dry weight of vegetative plant parts of green pea in the different phenophase of the plant development.
Annals of Academy of Romanian Scientists Series on Agriculture, Silviculture and Veterinary Medicine Sciences. 6 (1), 144-151, 2017. ISSN: 2069-1149.
29. Bódi, É., Várallyay, S., **Soós, Á.**, Kovács, B.: Effect of molybdenum treatments on growth and molybdenum uptake of green pea.
Annals of Academy of Romanian Scientists Series on Agriculture, Silviculture and Veterinary Medicine Sciences. 6 (1), 130-135, 2017. ISSN: 2069-1149.
30. Garousi, F., Domokos-Szabolcsy, É., Jánószky, M., Balláné Kovács, A., Veres, S., **Soós, Á.**, Kovács, B.: Selenoamino acid-enriched green pea as a value-added plant protein source for humans and livestock.
Plant Food Hum. Nutr. 72 (1), 168-175, 2017. ISSN: 0921-9668.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11130-017-0606-5>
IF: 2.465

Magyar nyelvű konferencia közlemények (5)

31. Posta, J., Nagy, D., Csámer, Á., **Soós, Á.**, Nyeste, E., Kovács, B.: A kabai meteorit elemanalitikai vizsgálata.
In: Átfogó kutatások a kabai meteoriton : a kabai meteorit hullásának 160. évében rendezett nemzetközi konferencia előadásai : 2017. november 8. Református Kollégium, Debrecen.
Szerk.: Nagy Mihály, Rózsa Péter, McIntosh Richard William, Debreceni Egyetemi Kiadó, Debrecen, 159-168, 2018, (Acta geographica ac geologica et meteorologica Debrecina. Acta Geoscientia Debrecina, ISSN 1788-4497 ; 1. különszám) ISBN: 9789633180532
32. Papp-Topa, E. A., Nyeste, E., **Soós, Á.**, Kovács, B.: Thermo iCAP 6300 ICP-OE spektrométer optimalizálása.
In: 60. Magyar Spektrokémiai Vándorgyűlés és XIII. Környezetvédelmi Analitikai és Technológiai Konferencia : Program és előadás összefoglalók / Mihucz Viktor Gábor, Debreceni Egyetem, Debrecen, 53-57, 2017. ISBN: 9789639970779
33. Novák, A., **Soós, Á.**, Nagy, É., Kovács, B., Czipa, N.: Gyógynövény kivonatos méhkészítmények mikroelem tartalmának vizsgálata.
In: XXXVI. Óvári Tudományos Nap - Hagyomány és innováció az agrár- és élelmiszergazdaságban: Tudományos Nap Összefoglalók. Szerk.: Bali Papp Ágnes, Szálka Éva, Széchenyi István Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar, Mosonmagyaróvár, 125-133, 2016. ISBN: 9786155391798





34. Novák, A., **Soós, Á.**, Kovács, B., Czipa, N.: Mézек és gyógynövény kivonatos méhkészítmények makroelemtartalmának vizsgálata.
In: Óshonos- és tájfajták, ökotermékek, egészséges táplálkozás, vidékfejlesztés : a XXI. század mezőgazdasági stratégiái : tudományos konferencia, Nyíregyháza. Szerk.: Tóth Csilla, Nyíregyházi Egyetem Műszaki és Agrártudományi Intézet, Nyíregyháza, 279-285, 2016. ISBN: 9786155545696
35. Várallyay, S., Veres, S., **Soós, Á.**, Bódi, É., Kovács, B.: Arzén kezelés hatása kukorica növény tápanyagfelvételére rhizoboxos nevelési körülmények között.
In: Georgikon Napok konferenciakötet : 2015-ös előadások, Pannon Egyetem, [Keszthely], 458-464, 2015. ISBN: 9789639639829

Idegen nyelvű konferencia közlemények (2)

36. Diósi, G., **Soós, Á.**, Sipos, P.: Mineral element composition of grain.
In: Integration of science in food chain : Book of proceedings. Ed.: Tekla Engelhardt, István Dalmadi, László Baranyai, Csilla Mohácsi-Farkas, Faculty of Food Science, Corvinus University, Budapest, 61-64, 2015. ISBN: 9789635036035
37. Kovács, B., Bódi, É., **Soós, Á.**, András, D.: Application of ICP-MS in various fields of research.
In: 28th Indian Society for Mass Spectrometry Symposium cum Workshop on Mass Spectrometry. Ed.: Suresh K. Aggarwal, P. G. Jaison, Arnab Sarkar, Prudent Arts & Fab Private Limited, Mumbai, 69-80, 2014. ISBN: 9788190444262

Magyar nyelvű absztrakt kiadványok (6)

38. Posta, J., Nagy, D., **Soós, Á.**, Kovács, B.: A kabai meteorit elemanalitikai vizsgálata.
In: Átfogó kutatások a kabai meteoriton, Debreceni Református Kollégium, Debrecen, 15, 2017.
39. Várallyay, S., Balláné Kovács, A., **Soós, Á.**, Kovács, B.: Arzénkezelés hatása a zöldborsó kén, magnézium, valamint vas felvételére.
In: Magyar Spektrokémia vándorgyűlés és XIII. Környezetvédelmi Analitikai és Technológiai Konferencia. Debrecen, 2017. 08. 23-25 : Program és előadás összefoglalók, [Debreceni Egyetem], [Debrecen], 150-153, 2017.
40. Bódi, É., Várallyay, S., **Soós, Á.**, Kovács, B.: Molibdén kezelés hatása a zöldborsó makroelem felvételére.
In: Magyar Spektrokémia vándorgyűlés és XIII. Környezetvédelmi Analitikai és Technológiai Konferencia. Debrecen, 2017. 08. 23-25 : Program és előadás összefoglalók, [Debreceni Egyetem], [Debrecen], 147-149, 2017.





41. Várallyay, S., Veres, S., **Soós, Á.**, Bódi, É., Kovács, B.: Arzén kezelés hatása kukorica növény tápanyagfelvételére rhizoboxos nevelési körülmények között.
In: LVII. Georgikon Napok = 57th Georgikon Scientific Conference : Kivonat-kötet : Programfüzet, valamint az elhangzó és poszter előadások rövid kivonatainak gyűjteménye : [agrárgazdaság a növekedéskor után] : [2015. október 1-2., Keszthely]. Szerk.: Nagy Zita Barabara, Pannon Egyetem Georgikon Kar, Keszthely, 123, 2015. ISBN: 9789639639812
42. Várallyay, S., Andrási, D., **Soós, Á.**, Kovács, B.: Mintaelőkészítési módszerek összehasonlítása tejminta elemtartalom vizsgálatára.
In: XI. Környezetvédelmi Analitikai és Technológiai Konferencia : Program és Előadás Összefoglalók, KAT13, Hajdúszoboszló, 93, 2013.
43. **Soós, Á.**: Mikroelemtartalom-mérési módszer kidolgozása borra, direkt mintabevitel esetén, multielemes ICP-MS mérésnél.
In: Kari Tudományos Diákköri Konferencia. Kiadta: a Debreceni Egyetem Mezőgazdaság-Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar Tudományos Diákköri Tanács, Debreceni Egyetem Mezőgazdaság-Élelmiszertudományi És Környezetgazdálkodási Kar Tudományos Diákköri Tanács, Debrecen, 42, 2012.

Idegen nyelvű absztrakt kiadványok (16)

44. Sumanszki, C., Kiss, E., Simon, E., Galgóczi, E., **Soós, Á.**, Patócs, A., Kovács, B., Nagy, E. V., Reismann, P.: Iodine and selenium status in adult PKU.
Endocrine Abstracts. 63, P781, 2019. ISSN: 1470-3947.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1530/endoabs.63.P781>
45. Karaffa, L., Molnár, Á. P., Kolláth, I. S., Kovács, B., **Soós, Á.**, Kubicek, C. P., Fekete, E.: *Aspergillus terreus* itaconic acid fermentation technology reflects the physiological requirements of overflow metabolism.
In: 11th International Mycological Congress: Mycological Discoveries for a Better World : Abstract Book, Ana G. Méndez University, San Juan, Puerto Rico, 355-356, 2018.
46. Bódi, É., Várallyay, S., **Soós, Á.**, Kovács, B.: Changes of Microelement Content Of Green Pea and Maize by Molybdenum Enrichment.
In: FSD 2018 3rd Food Structure & Design Conference : Abstract Book. Ed.: Zoltán Győri, Debreceni Egyetem, Debrecen, 46-47, 2018. ISBN: 9789634900245
47. Kolláth, I. S., Fekete, E., Sándor, E., **Soós, Á.**, Kovács, B., Karaffa, L.: Effect of copper (II) ions on itaconic acid production by *Aspergillus terreus*.
In: VII. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia 2018 absztraktkötet. Szerk.: Bódog Ferenc, Pécsi Tudományegyetem Doktorandusz Önkormányzat, Pécs, 74, 2018. ISBN: 9789634292104





48. Bódi, É., Balláné Kovács, A., Várallyay, S., **Soós, Á.**, Kovács, B.: Growth of Green Pea by Effect of Molybdenum Treatments at Different Developmental Stages.
In: Scientific researches in food production, University of Debrecen - Proceedings of abstracts. Ed.: Béla Kovács, Nikolett Czipa, Ferenc Peles, Éva Bacs kainé Bódi, Andrea Kántor, Flóra Mária Szabóné Petróczi, Loránd Alexa, Debreceni Egyetem, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar, Debrecen, 17, 2018. ISBN: 9789634900412
49. Kovács, B., Nagy, K., Lévai, L., Várallyay, S., **Soós, Á.**, Papp-Topa, E. A., Bódi, É.: The Effect of Selenium Treatment on Maize and Sunflower Plants in Nutrient Solution and Soil-Plant System.
In: FSD 2018 3rd Food Structure & Design Conference : Abstract Book. Ed.: Zoltán Győri, Debreceni Egyetem, Debrecen, 38-39, 2018. ISBN: 9789634900245
50. Várallyay, S., Veres, S., Bódi, É., **Soós, Á.**, Papp-Topa, E. A., Kovács, B.: Effect of Arsenic on the Growing Parameters of Sunflower Seedlings.
In: Scientific researches in food production, FBFS, SUA in Nitra - Proceedings of abstracts. Ed.: Miroslava Kačániová, Slovak University of Agriculture in Nitra, Nitra, 40, 2017. ISBN: 9788055217369
51. Várallyay, S., Veres, S., Bódi, É., **Soós, Á.**, Papp-Topa, E. A., Kovács, B.: Effect of Inorganic Arsenic forms on the Uptake of Boron and Calcium by Sunflower Seedlings.
In: Scientific researches in food production, FBFS, SUA in Nitra - Proceedings of abstracts. Ed.: Miroslava Kačániová, Slovak University of Agriculture in Nitra, Nitra, 41, 2017. ISBN: 9788055217369
52. Bódi, É., Várallyay, S., **Soós, Á.**, Papp-Topa, E. A., Kovács, B.: Examination of the Molybdenum Uptake of the Green Pea at Different Developmental Stages.
In: Scientific researches in food production, FBFS, SUA in Nitra - Proceedings of abstracts. Ed.: Miroslava Kačániová, Slovak University of Agriculture in Nitra, Nitra, 19, 2017. ISBN: 9788055217369
53. Papp-Topa, E. A., Nyeste, E., **Soós, Á.**, Bódi, É., Várallyay, S., Kiss, D., Kovács, B.: Optimization of Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer.
In: Scientific researches in food production, FBFS, SUA in Nitra - Proceedings of abstracts. Ed.: Miroslava Kačániová, Slovak University of Agriculture in Nitra, Nitra, 12, 2017. ISBN: 9788055217369
54. Kolláth, I. S., Molnár, Á. P., Fekete, E., Sándor, E., **Soós, Á.**, Kovács, B., Kubicek, C. P., Karaffa, L.: Production of itaconic acid from D-xylose by *Aspergillus terreus*. Utánközlés párhuzamos közlés,
In: 2nd Symposium on Plant Biomass Conversation by Fungi, Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Utrecht, Hollandia, 25, 2017.





55. Kolláth, I. S., Molnár, Á. P., Fekete, E., Sándor, E., **Soós, Á.**, Kovács, B., Kubicek, C. P., Karaffa, L.: Production of itaconic acid from D-xylose by *Aspergillus terreus*.
In: Abstracts of the 5th Central European Forum for Microbiology. Ed.: K. Márialigeti, O. Dobay, Akadémiai Kiadó, Budapest, 136, 2017, (Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica, ISSN 1217-8950 ; 64. (Suppl))
56. Várallyay, S., Veres, S., **Soós, Á.**, Bódi, É., Kovács, B.: Effect of different arsenic treatments on the uptake of Ca, K, S, P and Mg by maize seedlings.
In: 1st Meeting of Young Researchers from V4 Countries. Book of Abstract. Ed.: Monika Wesolowska, University of Rzeszow, Rzeszow, 90, 2016.
57. Bódi, É., Várallyay, S., **Soós, Á.**, Kovács, B.: Effect of molybdenum treatment on the element content of maize and green pea in a long-term field experiment.
In: 1st Meeting of Young Researchers from V4 Countries : Book of Abstract. Ed.: Monika Wesolowska, University of Rzeszow, Rzeszow, 17, 2016.
58. Novák, A., **Soós, Á.**, Kovács, B., Czipa, N.: Mézек és gyógynövény kivonatos méhkészítmények makroelem tartalmának vizsgálata = Analysis of makroelement content in honeys and herdhoneys.
In: Öshonos- és tájfajták - Ökotermékek - Egészséges Táplálkozás - Vidékfejlesztés: A XXI. század mezőgazdasági stratégiái Konferencia. Szerk.: Irinyiné Oláh Katalin, Kosztyuné Krajnyák Edit, Tóth Csilla, Lajtos István, Nyíregyházi Egyetem, Nyíregyháza, 62, 2016. ISBN: 9786155545696
59. Kovács, B., Bódi, É., Garousi, F., Várallyay, S., **Soós, Á.**, Vágó, X., András, D.: Problems and solutions in the application of ICP-MS for analysis of trace elements in various samples.
World Academy of Science, Engineering and Technology. International Journal of Nutrition and Food Engineering. 2 (6), 1, 2015. ISSN: 2010-376X.

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 22,748

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
3,714**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudománymetriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2020.02.13.



NYILATKOZAT

Ezen értekezést a Debreceni Egyetem Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Karán, a Kerpely Kálmán Növénytermesztési és Kertészeti Tudományok Doktori Iskola keretében készítettem, a Debreceni Egyetem doktori (Ph.D.) fokozatának elnyerése céljából.

Debrecen, 20.....

.....

a jelölt aláírása

NYILATKOZAT

Tanúsítom, hogy **Soós Áron** doktorjelölt 2015-2018 között a fent megnevezett Doktori Iskola keretében irányításommal végezte munkáját. Az értekezésben foglalt eredményekhez a jelölt önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult, az értekezés a jelölt önálló munkája. Az értekezés elfogadását javaslom.

Debrecen, 20.....

.....

a témavezető aláírása

..