

Mikrobás szennyezettség/aktivitás gyors kimutatása (élelmiszerekben, műszeres módszerek alkalmazásával)

Dr. Farkas József

A dokumentumban foglaltak a szerző kizárólagos felelősségét képezik és nem tükrözik szükségszerűen az Európai Bizottság hivatalos véleményét

ÖSSZEFOGLALÓ

AZ ÉLELMISZEREK MIKROBIOLÓGIAI SZENNYEZETTSÉGE ÉS A MIKROBÁS ÉLELMISZERBIZTONSÁG MINDENKOR GONDOT OKOZOTT AZ ÉLELMISZERIPARNAK, AZONBAN SOHA AZELŐTT NEM FORDULT ILYEN MÉRTÉKBEN A NYILVÁNOS ÉRDEKLŐDÉS A TÉMA FELÉ. AZ ÉLELMISZERBŐL ÉS A KÖRNYEZETBŐL SZÁRMAZÓ MIKROBÁK KIMUTATÁSA ÉS MEGSZÁMLÁLÁSA SEGÍT BENNÜNKET ÉLELMŰNK BIZTONSÁGÁNAK ÉS STABILITÁSÁNAK BIZTOSÍTÁSÁBAN.

HAGYOMÁNYOS MÓDSZEREK (PL. LEMEZÖNTÉSESE TENYÉSZTÉS) AZ ÉLELMISZERBEN LÉVŐ MIKROORGANIZMUSOK DETEKTÁLÁSÁRA ÉS SZÁMLÁLÁSÁRA NAGY IDŐIGÉNYŰEK (2–5 NAPOT IGÉNYBE VÉVE) ÉS MUNKAIGÉNYESEK, A PATOGÉNEK DETEKTÁLÁSA ÁLTALÁBAN ELŐDÚSÍTÁST, SZELEKTÍV DÚSÍTÁST ÉS SZELEKTÍV LEMEZRE VITELI LÉPÉSEKET MAJD EZT KÖVETŐEN BIOKÉMIAI ÉS SZEROLÓGIAI MEGERŐSÍTÉST IGÉNYEL.

A HAGYOMÁNYOS MÓDSZEREKTŐL ELTÉRŐEN, GYORS, AUTOMATIZÁLT, KÜLÖNÖSEN A „REAL TIME” MÓDSZEREK LENNÉNEK ALKALMASAK A VESZÉLY ELEMZÉS KRITIKUS SZABÁLYOZÁSI PONTOK (HACCP) RENDSZER KRITIKUS ELLENŐRZŐ PONTJAINAK FIGYELEMMEL KISÉRÉSÉHEZ.

AZ IPARI ÉS TÁRSADALMI IGÉNYEK KIELÉGÍTÉSÉRE A MIKROORGANIZMUSOK GYORS DETEKTÁLÁSÁRA, SZÁMOS ÚJ MÓDSZERT VIZSGÁLTAK MEG, RÉSZBEN AZ EÚ ÁLTAL SZPONZORÁLT KUTATÁSOK SORÁN IS. NÉHÁNY BIO-ÉRZÉKELŐ TECHNOLÓGIA ÉS MŰSZERES MÓDSZER NAGY LEHETŐSÉGEKET HOZOTT GYORS ÉS MEGBÍZHATÓ RENDSZEREK KIFEJLESZTÉSÉBEN. NÉMELY ILYEN MÓDSZER EGYIK VONZÓ JELLEMZŐJE AZ A LEHETŐSÉG, HOGY NAGYSZÁMÚ MINTÁT LEHET VELÜK KEZELNI ÉS NYOMON KÖVETNI. AZ ÚJ TECHNIKÁK ALKALMAZÁSA MÖGÖTTI ALAPVETŐ FELTÉTELEZÉS, HOGY HA A MINTÁBAN NÖVEKSZIK A MIKROORGANIZMUSOK SZÁMA /BIOMASSZÁJA, A MÉRT FIZIKAI BIO-FIZIKAI ÉS BIO-KÉMIAI ESEMÉNYEK UGYANCsak ENNEK MEGFELELŐEN VÁLTOZNAK.

A JELEN BESZÁMOLÓ LEGFONTOSABB TERÜLETEI AZ ÉLELMISZEREK ELTARTHATÓSÁGA ÉS MIKROBIOLÓGIAI BIZTONSÁGA, VALAMINT A GYÁRTÁSI HIGIÉNÉ ÉS FELÜLETEK TISZTÍTÁSA, MIVEL A FELDOLGOZÓ BERENDEZÉSEKET IS RENDSZERESEN ELLENŐRIZNI KELL A HIGIÉNÉS GYAKORLAT IGAZOLÁSA ÉRDEKÉBEN.

INHALT

DIE MIKROBIOLOGISCHE KONTAMINATION DER LEBENSMITTEL UND DIE MIKROBISCHE LEBENSMITTELSICHERHEIT HABEN IMMER VIELE SORGEN FÜR DIE LEBENSMITTELINDUSTRIE BEREITET. ABER NOCH NIE ZUVOR HAT DIE ÖFFENTLICHKEIT SOLCH EIN REGES INTERESSE FÜR DAS THEMA BEWIESEN. DIE NACHWEISUNG UND DAS ABZÄHLEN VON AUS DEM LEBENSMITTEL UND DER UMWELT STAMMENDEN MIKROBEN HILFT UNS DIE SICHERHEIT UND DIE STABILITÄT UNSERER LEBENSMITTEL ZU GARANTIEREN.

DIE TRADITIONELLEN METHODEN (Z. B. ANWENDUNG VON KULTURPLATTEN) DIE ZUR NACHWEISUNG UND ZUM ABZÄHLEN DER MIKROORGANISMEN IM LEBENSMITTEL ANGEWENDET WERDEN KÖNNEN ERFORDERN VIEL ZEIT (2–5 TAGE) UND ARBEIT. DIE NACHWEISUNG DER KEIME BEDINGT IM ALLGEMEINEN EINE VORVERMEHRUNG (VORZUCHT), SELEKTIVE VERMEHRUNG UND SELEKTIVER PLATTENAUFTRAG DANN EINE BIOCHEMISCHE UND SEROLOGISCHE BESTÄTIGUNG.

BEVEZETÉS

Az élelmiszerek mikrobiológiai szennyezettsége és a mikrobás élelmiszerbiztonság mindenkor gondot okozott az élelmiszeriparnak, azonban soha azelőtt nem fordult ilyen mértékben a nyilvános érdeklődés a téma felé. Az élelmiszerek érzékszervi romlásának oka legtöbbször a mikrobás (baktériumos vagy mikrogombás) aktivitás. Az élelmiszer és a takarmányok gombás szennyezettsége jelentős gazdasági veszteségeket okoz, a termés közvetlen károsodása, elszíneződése, színváltozása és a tápérték veszte-

ség miatt. Ennél sokkal fontosabb, hogy a penészgombás szennyezés az élelmiszerekben mikotoxin termeléssel társulhat, amely toxikus hatást gyakorol az emberi és állati szervezetre. Az élelmiszerből és a környezetből származó mikrobák kimutatása és megszámlálása segít bennünket élelmünk biztonságának és stabilitásának biztosításában.

Hagyományos módszerek (pl. lemezöntéses tenyésztés) az élelmiszerben lévő mikroorganizmusok detektálására és számlálására nagy időigényűek (2–5 napot igénybe véve) és munkaigényesek, a patogének detektálása általában elődúsi-

tást, szelektív dúsítást és szelektív lemezre viteli lépéseket, majd ezt követően biokémiai és szerológiai megerősítést igényel. Így, nyilvánvalóan szükség van gyors, egyszerű, robusztus és flexibilis technikákra, amelyek nem kívánnak olyan speciális szakképzettséget, mint a nehézkes konvencionális módszerek. A hagyományos módszerektől eltérően, gyors, automatizált, különösen a „real time” módszerek lennének alkalmasak a Veszély Elemzés Kritikus Szabályozási Pontok (HACCP) rendszer kritikus ellenőrző pontjainak figyelemmel kíséréséhez.

FÜR DAS MONITORING DER HACCP PUNKTE – ABWEICHEND VON DER TRADITIONELLEN METHODEN – WÄREN DIE SCHNELLEN, AUTOMATISIERTEN, SO GENANNTE „REAL TIME“ METHODEN GEEIGNET.

UM DIE BEDÜRFNISSE DER GESELLSCHAFT UND DER INDUSTRIE ZU BEFRIEDIGEN UND UM DIE MIKROORGANISMEN SCHNELL NACHZUWEISEN WURDEN VIELE NEUE METHODEN EINGEHEND GEPRÜFT. TEILWEISE AUCH IM LAUFE DER VOM EU UNTERSTÜTZTEN FORSCHUNGEN. EINIGE BIOSORTECHNOLOGIE UND INSTRUMENTALE METHODEN HABEN IN DER ENTWICKLUNG SCHNELLER UND SICHERER SYSTEME GROBE MÖGLICHKEITEN GEBOTEN. EINE GEWINNENDE EIGENHEIT DIESER METHODEN IST DIE MÖGLICHKEIT, DASS DURCH SIE VIELE PROBEN ANALYSIERT UND VERFOLGT WERDEN KANN DIE FUNDAMENTALE ZUMUTUNG IM BACKGROUND DER ANWENDUNG NEUER TECHNOLOGIE BEDEUTET: WENN DIE ZAHL/BIOMASSE DER MIKROORGANISMEN WÄCHST WERDEN SICH DIE GEMESSENEN/REGISTRIERTEN BIOPHYSISCHEN UND BIOCHEMISCHEN EREIGNISSE DEMENTSPRECHEND VERÄNDERN.

DIE WICHTIGSTEN THEMEN DIESER BERICHTE SIND DIE HALTBARKEIT UND DIE MIKROBIOLOGISCHE SICHERHEIT DER LEBENSMITTEL, DIE BETRIEBSHYGIENE UND SAUBERHALTUNG DER OBERFLÄCHEN, WEIL – UM DIE HYGIENEPRAKXIS ZU BESTÄTIGEN – AUCH DIE VERARBEITUNGSAPPARATEN MÜSSEN REGELMÄßIG KONTROLLIERT WERDEN.

SUMMARY

THE MICROBIOLOGICAL CONTAMINATION OF FOODSTUFFS AND THE MICROBIAL FOOD-SAFETY HAVE ALWAYS BEEN A PROBLEM FOR THE FOOD-INDUSTRY. HOWEVER, THIS SUBJECT HAS NEVER BEEN SO LIVELY IN THE PUBLIC EYE BEFORE. THE DETECTION AND COUNTING OF MICROBES ORIGINATING FROM FOODSTUFFS AND THE ENVIRONMENT CAN HELP US GUARANTEE THE SAFETY AND STABILITY OF OUR FOOD.

TRADITIONAL METHODS (PL. CULTIVATION ON PLATE) NECESSARY TO DETECT AND COUNT MICRO-ORGANISMS IN FOODSTUFFS CONSUME A LOT OF TIME AND WORK (2–5 DAYS). THE DETECTION OF PATHOGENS USUALLY REQUIRE PRE-GROWING, SELECTIVE GROWING AND SELECTIVE APPLICATION ONTO PLATES AND AFTER THAT BIOCHEMICAL AND SEROLOGICAL VERIFICATION AS WELL.

UNLIKE TRADITIONAL METHODS ESPECIALLY THE RAPID, AUTOMATED “REAL TIME” METHODS WOULD BE SUITABLE TO MONITOR THE CRITICAL CONTROL POINTS OF THE HACCP SYSTEM ESPECIALLY THE RAPID, AUTOMATED “REAL TIME” METHODS.

TO SATISFY INDUSTRIAL AND SOCIAL DEMAND AND IMPLEMENT THE RAPID DETECTION OF MICRO-ORGANISMS SEVERAL NEW METHODS HAVE BEEN EXAMINED, PARTLY IN THE COURSE OF INVESTIGATIONS SPONSORED BY THE EUROPEAN UNION TOO. SOME TECHNOLOGIES APPLYING BIOSENSORS AND INSTRUMENTAL METHODS HAVE RESULTED GREAT OPPORTUNITIES IN TERMS OF DEVELOPING RAPID AND RELIABLE SYSTEMS. ONE OF THE ATTRACTIVE FEATURES OF SOME OF THESE METHODS IS THE POSSIBILITY THAT THEY CAN HANDLE AND MONITOR A LARGE NUMBER OF SAMPLES. THE BASIC ASSUMPTION BEHIND APPLYING THESE TECHNIQUES IS THAT IF THE NUMBER OF MICRO-ORGANISMS/BIOMASS IS INCREASING IN THE SAMPLE THE MEASURED PHYSICAL- BIO-PHYSICAL AND BIOCHEMICAL EVENTS WILL CHANGE ACCORDINGLY.

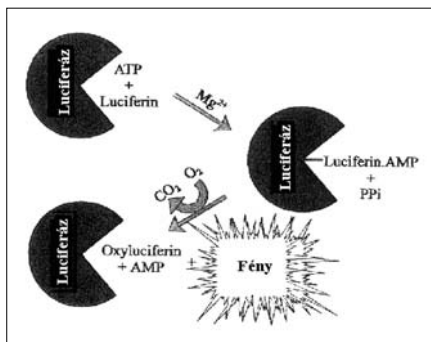
THE MOST IMPORTANT AREAS OF THIS REPORT ARE THE SHELF-LIFE AND MICROBIOLOGICAL SAFETY OF FOODSTUFFS, THE PRODUCTION HYGIENE AND THE CLEANING OF SURFACES, SINCE ALSO THE PROCESSING EQUIPMENTS HAVE TO BE CONTROLLED ON A REGULAR BASIS FOR THE SAKE OF VERIFYING THE HYGIENIC PRACTICE.

Az ipari és társadalmi igények kielégítésére a mikroorganizmusok gyors detektálására, számos új módszert vizsgáltak meg, részben az EU által szponzorált kutatások során is. Néhány bio-érzékelő technológia és műszeres módszer nagy lehetőségeket hozott gyors és megbízható rendszerek kifejlesztésében. Némely ilyen módszer egyik vonzó jellemzője az a lehetőség, hogy nagyszámú mintát lehet velük kezelni és nyomon követni. Az új technikák alkalmazása mögötti alapvető feltételezés, hogy ha a mintában növekszik a mikroorganizmusok száma/biomasszája, a mért fizikai bio-fizikai és bio-kémiai események ugyancsak ennek megfelelően változnak. Ez a rövid áttekintés néhány gyors technikával kapcsolatos, beleértve a releváns projekteket az EU K+F programokon belül, azon módszerekre korlátozódik, amelyek megfelelhetnek az olyan kis- és középvállalkozások számára, amelyek nem képesek vagy nem szándékoznak (mikrobiológiai) laboratóriumot fenntartani. Némely vonatkozó információ megtalálható egy másik Flair Flow szintézis beszámolóban is, amelyet Finn HOLM készített „Élelmiszer Minőségérzékelők” (2003) címmel.

A jelen beszámoló legfontosabb területei az élelmiszerek eltarthatósága és mikrobiológiai biztonsága, valamint a gyártási higiéné és felületek tisztítása, mivel a feldolgozó berendezéseket is rendszeresen ellenőrizni kell a higiénés gyakorlat igazolása érdekében.

Bio-lumineszcenciás ATP vizsgálat

Az ATP (adenozin-trifoszfát) az a kémiai vegyület, amelyben energia raktározódik valamennyi élő sejtben. Az ATP lumineszcencia vizsgálatban a szentjánosbogár luciferáz enzimje, annak luciferin szubsztrátuma oxigén és magnézium ionok jelenlétében átalakítja az ATP kémiai energiáját fénné oxidációs-redukciós reakció keretében (1. ábra). A kibocsátott fény mennyisége egyenesen arányos a jelenlévő ATP mennyiségével, így módon a fényegységek felhasználhatók a mintában lévő sejtek biomasszája becslésére. A készülék és megfelelő reagensek segítségével detektálni lehet az ATP mennyiségeket körülbelül 100 baktériumsejt alsó határig, noha ez a gyakorlatban általában közelebb van 10^3 – 10^4 -hez. Az intracelluláris mikrobás ATP mennyiségi értékelése gyors és egyszerűsített extrakciós és vizsgálati módszerrel végezhető. Az eljárás során emittált fény úgynevezett luminométerrel mérhető. A műszergyártó cégek ellátják a vevőiket minden szükséges reagenst



1. ábra
Az ATP bio-lumineszcenciás reakció

tartalmazó teszt kit-ekkel. A reagenseket a műszerekbe injektálják és a leolvasás relatív fényegységben (RLU-ban) történik. Ismerve a mikroorganizmusok számának és a fényintenzitásnak a kapcsolatát, meg lehet becsülni az élelmiszer mintában lévő mikroorganizmusok számát. Az ATP módszert használják már pl. hús, tej, víz, gyümölcslé, boripari és söripari minták, valamint szörpök mikrobás terhelésének értékelésére (FUNG, 1997). Nagy érdeklődést váltott ki az ATP mérés használata nemcsak az összes élő sejt szám becslésére, hanem mint higiéniai ellenőrzés is, ide értve a felületen lévő szomatikus sejtek jelenlétét is.

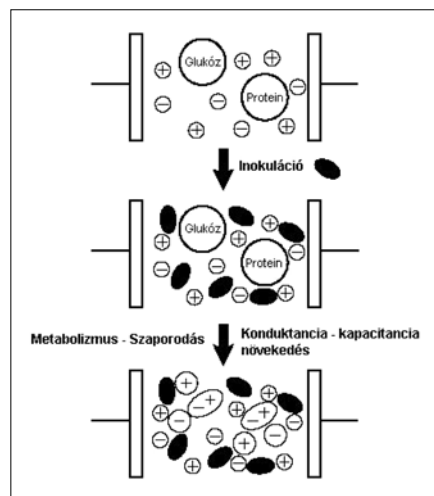
A felületeken lévő összes ATP kimutatására alapozott ATP bio-lumineszcenciás módszer, a kizárólag mikrobás eredetű ATP mérése helyett, jelzést ad a tisztasággal kapcsolatban, és detektálja a szomatikus eredetű ATP-t is, amit a tradicionális lemezöntéses számlálási módszer nem detektál [CHEN, 2000, ILLSLEY et al., 2000, QUINN et al. 2002, PAEZ et al. 2003]. Ezzel a módszerrel a felületi higiéné megállapítására szolgáló mintákat a felület letörlésével, vagy az öblítő vízből alikvotok vételével lehet nyerni [KISS et al., 1999]. A bio-luminométerek leolvasása „elfogadható” vagy „elfogadhatatlan” szintként értékelhető. Bárki, kevés gyakorlattal könnyen elvégezheti az eljárást. Az előkészítési és mérési idő csak néhány percet igényel. Kereskedelmi luminométerek különböző szállító cégeknél rendelkezésre állnak (Biotrace Uni-Lite, OPTOCOMP, Systems SURE, HY-LITE, LUMAC, Hygiene Monitoring kit, stb.) Kaphatók hordozható luminométerek is megfelelő mintavevőkkel és elő-csomagolt reagensekkel. A felhasználó letörli a vizsgálandó felületet, a törlő tampont beteszi a luminométer küvetájában lévő reagens oldatba és megkapja a mérési eredményt.

Az ATP bio-lumineszcencia módszer hasznos lehet a higiénével kapcsolatos igen gyors megállapításai miatt, noha a

készülék költsége és a gyenge reagens stabilitás még korlátozó tényezőkként szerepelnek.

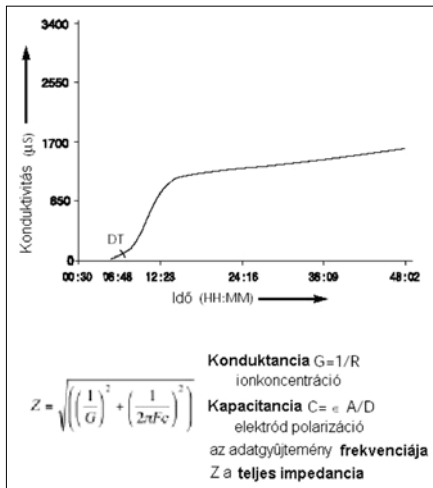
Impedancia és konduktancia mérések

Az impedancia a váltóáramnak a vezető anyagon való átfolyási ellenállása. Ezen módszerek elve a tápközeg ionos összetételében történt változások mérése, ahol a minta mikroorganizmusai által az elektromos töltés nélküli és a gyengén töltött molekulák (poliszacharidok, zsírok, fehérjék) erősen töltött bomlástermékek (szerves savak, zsírsavak, aminosavak) metabolizálódnak (2. ábra).



2. ábra
A baktériumos impedancia technika elve

Ez befolyásolja a közeg elektromos tulajdonságait, amely változást okoz az elektromos vezetőképességben és ellenállásban a folyadékban és a fém elektrodák érintkezésénél, amelyek a beoltott szaporító közeget tartalmazó mintatarókban vannak [RICHARDS et al., 1978, RULE, 1997]. Az impedancia vizsgálatot nem befolyásolják a zavaros vagy a nem átlátszó minták, amelyek zavarhatják a lemezöntéses módszernél az alacsony kolónia számok megállapítását. A detektálási idő (DT) a teszt kezdete és az impedimetrikus műszer által kiadott gyorsító impedancia jel megjelenése között eltelt időtartam. Impedimetrikus műszereknél, amelyeket mikrobás populációk becslésére fejlesztettek ki, a DT fordítottan arányos az impedimetrikus közegbe beoltott minta mikroba koncentrációjával, mivel minél nagyobb a mikroorganizmusok száma a folyadékban, annál gyorsabb a változás az elektromos impedanciában, kapacitanciában és konduktanciában (3. ábra). A konduktancia az ionok mozgása két elektróda között, a kapacitancia a töltés tárolása az



3. ábra

Impedimetrikus „szaporodási” görbe

elektroda felületén. Az elektromos jel hőmérsékletfüggő, így a hőmérséklet szabályozása kritikus: 1 C fokos hőmérséklet növekedés 0,9% növekedést eredményez kapacitanciában és 1,8%-ot a konduktanciában. Az összetételi változások a szaporító közegben sokkal előbb jönnek létre, mint ahogy a kolóniák elérnek látható biomasszájukat a hagyományos lemezöntéses módszernél. Baktériumok esetében, az ionos anyagcsere-termékek összegyűlése akkor válik észlelhetővé, amikor a baktérium szintek kb. 10^5 – 10^6 sejt/ml-t érnek el, vagy élesztő és penész szintek esetén elérik a körülbelül 10^4 /ml szintet. A speciálisan összeállított impedimetriás közegek a tradicionális tápközegekénél jobb impedancia görbéket adnak.

Különböző műszerek (pl. Bactometer, Malthus, RABIT, BacTrac) állnak rendelkezésre a kereskedelemben az ilyen detektálási idők méréséhez. Különböző vizsgálati típusok lehetővé teszik, hogy a felhasználó kiválassza a kívánt impedancia jelzést, illetve kapacitanciát, konduktanciát, vagy ezen jelek kombinációját. A műszer kalibrálva lehet a standard lemezszámra is. Ugyancsak lehet „vágási pontokat” létrehozni, hogy bizonyos specifikációkat mutassanak az élelmiszer termékkel kapcsolatban. Az a lehetőség, hogy az ilyen műszer inkubátor egységében lévő több mintát elemezzenek egyidejűleg, vonzóvá teszi ezt a technikát az élelmiszeripar számára és az ilyen elektronikus szaporodás elemzőket jelenleg az élelmiszeriparban egy sor vizsgálatnál már használják [pl. PIROVANO et al., 1995]. A felhasználó-barát modellek képernyője színjelzéseket mutat és azokból megállapítható, hogy például az élelmiszermintát „kifogásolható”-e vagy „közbenső óvatossági” tartományba esik-e.

A Malthus és a RABIT rendszerek segítségével közvetett konduktancia/impedancia mérések is lehetségesek. Nagy sótartalmú szelektív tápközeg vagy élesztők detektálása esetén az ilyen mérések CO_2 termelésen alapszanak. Ekkor az elektrodákat nem a mikroba tenyészetekbe, hanem CO_2 -ot elnyelő csapdába merítik, amelyek kálium hidroxid oldatot tartalmaznak a tenyészet légtérében.

Amellett, hogy vizsgálhatják az élelmiszerekben az élő mikrobajelzők teljes számát, az impedimetrikus műszerek detektálhatnak specifikus organizmusokat releváns szelektív és differenciáló folyadék közeg használatával [SZIGETI & FARKAS, 2000]. Impedancia vizsgálatok használhatók a beérkező nyersanyag mikrobiológiai minőségének megállapítására, hőkezelés értékelésére (pl. sterilítási vizsgálat), késztermékek mikrobiológiai minőségének és eltarthatóságának megállapítására, valamint a gyártóvonal higiéniai helyzetének meghatározására. Az impedimetrikus detektálási idők általában lényegesen rövidebbek (2–24 óra), mint a tradicionális tenyésztési eljárásoknál, ahol a telepkepző egységeket számolják. Mint valamennyi metabolizmusra alapozott technika, az impedancia adatok jobbak lehetnek a termék eltarthatóságának előrejelzésére, mint a lemezszámok, miután mind a mikroba szám mind a mikroba aktivitás a mérés során figyelembevételre kerül.

Az EU FAIR CT 96–1037 projekt többek között az impedancia módszert használta fel arra, hogy megszámlálja az élő baktériumokat a palackozott ásványvízben [RAMALKO et al., 2001]. Noha alacsony korrelációt kaptak az ásványvíznél a tradicionális heterotrofikus lemezszámok és az impedimetrikus detektálási idők között, amit három különböző ásványvíz mintával végeztek, kimutatták, hogy az impedancia módszer hasznos lehet az ásványvíz iparban mint a víz mikroba minőségének gyors indikátora.

A MICROQUAL projekt (QLK1–2000–01036) RABIT műszerrel végzett elektromos impedancia méréseket használják egy új mikroba szaporodási matematikai modell megalkotásánál, hogy előre megjósolhassák a mikroorganizmusok viselkedését steril tejben.

Elektronikus orrok

Elektronikus orroknak nevezett kémiai érzékelő készülékek komplex légtér-elemzők, amelyek komplex illó metabolitokat detektálnak. Ezek a készülékek különböző típusú érzékelők sorozatából állnak (egészen 32-ig terjedően) és méri a feszültség változásokat vagy vibrációs frekvenciákat válaszképpen a min-

tából emittált illó komponensekre. Képesek jelezni a frissességet, vagy inkább a romlandó élelmiszerek baktériumos rothadását (pl. hús, baromfi, hal és tejipari termékek, készételek). Egy mintafelismerő szoftver rendszer szolgál a minták megkülönböztetésére, és az illó anyagok elektronikus profilozására.

Az elektronikus orr valamilyen módon hasonló az emberi szaglási érzékhez (4. ábra). Az érzékelők sorozatának a jelzései összegyűjtésre kerülnek, és komputer segítségével feldolgozzák azokat. Ezeket az adatokat ezután további feldolgozás alá veszik megfelelő szoftver segítségével és az érzékelők válaszait egyetlen „ujjlenyomat”-tá alakítják. Az új minták ujjlenyomatai objektíven összehasonlíthatók a korábban tárolt adatokéval [BARTLETT et al., 1997]. Az elektronikus orr összehasonlíthatja egymással vagy egy referencia standarddal a mintákat. Minőségellenőrzéshez az elektronikus orr kalibrálva van, hogy felismerje az elfogadható és az elfogadhatatlan mintákat.

E technika előnye a gyorsaság és a reprodukálhatóság. Ha egy felhasználási formát már létrehozta, a rendszert futtathatja minimális képzettséggel rendelkező személy is.

A leggyakrabban használt e-orr érzékelők a fémoxid félvezetők (MOS), vezető polimer érzékelők vagy egy kvarckristály mikro-mérleg rendszer. Félvezető fémoxid érzékelők kemiszorbált oxigén speciest tartalmaznak, amely az illó anyagokkal kölcsönhatásba kerülve megváltoztatja az oxid vezetőképességét. A különböző gázérezékelőként preparált vezető polimer vezetőképessége gyorsan és reverzibilisen megváltozik, ha illóanyagok adszorbeálódnak rájuk. A kvarc-rezonátor érzékelők piezoelektromos kvarckristály oszcillátorból állnak, amely érzékelő membránnal van bevonva. Az illó anyagok adszorpciója a membránon a tömeg megváltozása következtében változásokat okoz a szenzor rezgési frekvenciájában.

A mintákat szeptummal lezárt ampullákba helyezik. A műszerben a szeptumot egy tű átszúrja és a mintából az illó anyagok nitrogén áram segítségével átjutnak az érzékelőbe és a mért eredményt tárolják és elemzik.

Az elektronikus orr szoftvere egy sor algoritmust és kemometrikus módszert alkalmaz, hogy értékelhető adatokat lehessen kapni az érzékelők jelzéseiből. Meghatározott alkalmazásra az elektronikus orrot meg kell „tanítani” pontos analitikai vagy érzékszervi adatokkal rendelkező mintákat használva kalibráció és tréning céljaira. Az adatfeldolgo-

záshoz többváltozós statisztikai módszerek, pl. főkomponens analízis (PCA) vagy diszkrimináns faktor analízis (DFA) a tipikus példái a használatos kemometriás technikáknak. A PCA az eredeti adatoknak a lineáris kombinációit vizsgálja maximális variancia szempontjából. Lehetővé teszi, hogy csökkentsek a változók számát, vagy érzékelő eredményeket kisebb számára csökkentsek adat és információvesztés nélkül. A variancia legnagyobb részét képező első főkomponenst az x tengelyre viszik fel, a második legnagyobb komponenst ortogonálisan az y tengelyre, stb. A DFA olyan technika, amelynek célja annak meghatározása, hogy melyik változó garnitúra különbözteti meg a legjobban az egyik adatszoportot a másiktól. Az ezekkel a kemometriás ábrázolásokkal képzett „clusterek” egyszerű vizuális szemléltetését adják annak, hogy mennyire hasonlóak vagy különbözők a mintáknak a légterében lévő illó anyagok. Az elektronikus orr használhatósága az élelmiszeriparban a módszer gyorsaságán és egyszerűségén múlik.

Elektronikus orrokat egyre inkább használnak az élelmiszer előállításban, a minőségellenőrzésben és kutatásban. A módszer pontosabbá vagy érzékenyebbé válhat, mint az érzékszervi értékelés, és az eredmények felhasználhatók új intelligens csomagolási és tárolási technológiák kifejlesztésében. Az elektronikus orr rendszer egy sor előnyt biztosít egyéb műszeres technológiákkal és az érzékszervi bíráló bizottságokkal szemben az aromaprofil becslésében, mert kevesebb szakértelemre van szükség, viszonylag alacsony a beruházási költség és automatizált mesterséges intelligencia áll rendelkezésre az adatelemzéshez.

Kutatási munka folyik pl. a pármái sonka mikrobás szennyezése okozta szagok detektálására, vagy a tárolt burgonya *Erwinia carotovora* általi rothadási fertőzésének kimutatására [COWELL et al., 2000]. Ez utóbbi esetben, úgy tűnik, hogy detektálni lehet egyetlen romló burgonyát fél mázsában, vagy az infekció két héttel korábban észlelhető, mint ahogy a romlási szimptómák láthatóvá válnak.

Az „A hal frissességének értékelése” című európai összehangolt akció projekt (AIR CT94–2283) célja, hogy harmonizálja a vezető hal-laboratóriumokban folyó kutatási tevékenységet a hal frissességének értékelése területén. Európában egy elektrokémiai gáz-érzékelőkkel dolgozó műszert fejlesztettek ki illó vegyületek gyors kimutatására. Megállapítható, hogy a gáz érzékelő műszer méréséből származó eredmények felhasználhatók az összes bázikus illó-

anyag (TVB) előrejelzésére, ami a haliszt termelés egyik minőségi indexe, sokkal gyorsabban és egyszerűbben, mint a klasszikus mérések segítségével [OLAFSDOTTIR et al., 1997].

Egy másik felhasználási lehetőség a gabonák és más száraz áruk penészségének (gombás fertőzöttségének) a megállapítása. A penészek egy sor illó vegyületet bocsátanak ki és ezek lehetővé teszik, hogy a fertőzött tétteleket elektronikus érzékelőkkel detektálják. Egy EU által finanszírozott projektben (FAIR CT96–1120) az elektronikus orrok széles skáláját értékelték tekintettel azok érzékenységére a penészes gabona által kibocsátott illóanyagokra. Az érzékelők megfelelő kombinációját keresték meg, amelyek alkalmasak arra, hogy a gabona mintákban az ergoszterin tartalom (egy specifikus vegyület, amelyet csak gombákban van) előrejelzésére használják őket. A projekt résztvevői legújabbán közzétették sokat ígérő eredményeiket [OLSSON et al., 2002] annak lehetőségéről is, hogy a penészgombák illó metabolitjait elektronikus orral mérve mikotoxinok (ochratoxin A és a deoxinivalenol) indikálására használják árpában.

Néhány kereskedelmi gázérezkelőnél a vízpára zavaró hatása reprodukálhatatlanságot, érzékenység csökkenést és jeltolódást okoz. A PROFILE–QD (FAIR–98–3436) elnevezésű projekt új, vízre érzéketlen szenzortípus, a Discoli folyadékkristály érzékelő kifejlesztését tűzte ki célul mikroorganizmusok detektálására a vízszolgáltatásban, vagy a hal és haltermékek frissességének mérésére.

Egy másik EU által finanszírozott projektben (QLK1–2000–01763) egy kereskedelembe kapható e-orr rendszer alkalmazását vizsgálták a Danish blue cheese (márványsajt) érettségi állapotának értékelésére. A módszer igen jó különbséget tett a különböző sajt érettségi fokozatok között, összehasonlítható volt a GC–MS-el és érzékszervi elemzéssel. A projekt egyéb eredményei arra utalnak, hogy lehetséges romlást okozó mikroorganizmusok általi szennyezettséget detektálni tejipari és sütőipari termékek-nél is.

A további munka célja a mikrobás szennyezés/fertőzés detektálása élelmiszerben, roncsolásmentesen, olyan készülékekkel, amelyek gazdaságosak, megbízhatóak és specifikusak a feladatra minimális érzékelő szám felhasználásával minimális komputer kapacitással működnek. Élelmiszeripari használatra a haladás útja az alkalmazás-specifikus elektronikus orrok fejlesztése, amelyek egy adott probléma megoldására szabotak. Hordozható műszerek kerültek nem-

rég bevezetésre az elektronikus orr piacra. Ezek a műszerek specifikus tervezésűek annak érdekében, hogy robusztusak legyenek és gyári környezetben is tudjanak dolgozni, és sokkal olcsóbbak mint az asztali műszerek. Használatuk azonban csupán egy vagy két feladatra korlátozódik.

Közeli infravörös spektroszkópia

Az EU FAIR CT96 1120 projektben vizsgálatra került a közeli infravörös (NIR) spektroszkópia alkalmazása, amely széles körben használt analitikai eszköz fő élelmiszerkomponensek mérésére, gabonák ergoszterin tartalmának, penészgombás szennyezettség egyik jelzőjének (lásd fentebb) a mérésére. Különböző közeli infravörös műszereket használtak különféle gabonafélék elemzésére, amelyeket több országból gyűjtöttek. Kimutatták, hogy a NIR spektroszkópia használható a penész szennyezettség pontos előrejelzésére, noha külön kalibrációt javasoltak minden gabonaféléhez. Hasonló eredményeket kaptak egy újabb INCO–COPERNICUS projektben (IC 15–CT98–0901), ahol egy gyors tájékozódó módszert fejlesztettek ki NIR spektroszkópiát használva száraz élelmiszer adalékanyagok, pl. őrölt fűszerek penészes szennyezettségének mérésére. Ez a módszer gyorsabb, mint az elektronikus orral való vizsgálat.

DOWELL és munkatársai (1999) cikket jelentettek meg a fenti projekttel kapcsolatban, közeli infravörös spektroszkópia használatával előre jelezve bizonyos mikotoxinokat és ergoszterint egyedi búzaszemekben.

Vegyes technikák

A MICROSENSOR projektben (QLK1–1999–00343) érzékelő technológiát fejlesztettek ki komplex miniatűr elektroforetikus rendszer alkalmazásával, amely elválasztja és koncentrálna a kimutatandó vegyületet. A rendszert többek között mikotoxinok vagy *Listeria* mennyiségi értékelésére alkalmazták. *Listeria* esetében a detektor egység egy jól ismert ATP lumineszcencia detektor lehet.

A QTEPACK projekt (QLK1–2000–00936) célja olcsó nukleáris mágneses rezonancia (NMR) technikák kifejlesztése volt gyümölcsosztályozó és csomagoló vonalon rothadó penészgomba, pl. narancsban *Penicillium digitatum*, okozta romlás korai detektálására.

A QLRT–2001–025455 projekt célja egy idő-hőmérséklet integrátoron alapuló biztonsági figyelő és biztosító rend-

szér (SMAS) kidolgozása és alkalmazása hűtött hústermékekhez. A SMAS szaporodáskinetikai modelleket használ domináns patogének és romlást okozó baktériumok számára és kockázatbecslési technikákat és egyedi termék hőtörténet mérést integrál hatékony hűtőlánc döntési és management eszközeként.

Konklúzió

Az élelmiszertermelők, feldolgozók és multidiszciplináris tudományos kutatási csapatok (ideértve vegyészeket, bio-kémikusokat, mikrobiológusokat és élelmiszerbiztonság, élelmiszer frissesség, élelmiszerromlás, élelmiszer elszíneződések iránt érdeklődő fizikusokat) együttműködése biztosan meg fogja könnyíteni a fenti beszámolóban ismertetett technikák továbbfejlesztését és alkalmazását.

Irodalmi hivatkozások

- BARTLETT, P. N., ELLIOTT, J. M., GARDNER, J. W. (1997) Electronic noses and their application in the food industry. (*Elektronikus orrok és azok alkalmazása az élelmiszéripárban.*) Food Technol., 51: (12) 44–48.
- CHEN, J. (2000) ATP bioluminescence: A rapid indicator for environmental hygiene and microbial quality of meats. (*ATP bio-lumineszcencia: Gyors indikátor a környezet higiéné és a húskok mikrobiológiai minősítése számára.*) Dairy, Food Environ. Sanit., 20: 617–620.
- COWELL, D. C., COSTELLO, B., de Lacy, DOWMAN, A. A., EWEN, R., GUNSON, H. E., HART, J. P., HAWKINS, D., RATCLIFFE, N. M., SPENCER PHILIPS, P. T. N. (2000) Minimal vapour sensor arrays for the detection of microbial infection in foodstuffs. (*Páraérzékelő szenzorok az élelmiszerek mikrobás fertőzésének detektálásához.*) A Poster.
- DOWELL, F. E., RAM, M. S., SEITZ, L. M. (1999) Predicting scab, vomitoxin and ergosterol in single wheat kernels using near-infrared spectroscopy. (*Varasodás, vomitoxin és ergosztezin előjelzése egyedi búzaszemekben közeli infravörös spektroszkópia használatával.*) Cereal Chem., 76: 573–576.
- FUNG, D. Y. C. (1997) Overview of rapid methods of microbiological analysis. (*Mikrobiológiai elemzés gyors módszereinek áttekintése.*) In: Tortorello, M. L., Gendell, S. M. (eds.) Food Microbiological Analysis. Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, Hong Kong, pp. 1–25.
- HOLM, F. (2003) Food Quality Sensors. (*Élelmiszer-minőséget érzékelő szenzorok*) Flair-Flow synthesis report No. 4 for SMEs. ISBN: 2-7380-1076-8.
- ILLSLEY, R. A., JACKSON, E. D., McRAE, U. B., FEIRTAG, J. M. (2000) A comparison of commercial ATP bioluminescence hygiene monitoring systems with standard surface monitoring techniques in a baking facility. (*A kereskedelemben kapható ATP bio-lumineszcencia és higiéné figyelő rendszerek összehasonlítása standard felület vizsgálati technikákkal sütőipari berendezésekben*) Dairy, Food Environ. Sanit., 20: 522–526.
- KISS, I., KLOSZ, K., FARKAS, J. (1999) ATP bioluminescence studies on effects of disinfectants on surfaces in a poultry slaughterhouse. (*ATP biolumineszcencia vizsgálatok fertőtlenítőszer hatékonyságával kapcsolatban baromfivágóhidakon.*) In: COST Action 97: „Pathogenic Microorganisms in Poultry and Eggs”, Scientific Workshop and Working Group 3 meeting, Berlin, Germany, 6–7 June 1998. EUR 19214 EN. European Communities, Office for Official Publications, Luxembourg, pp. 113–120.
- ÓLAFSDÓTTIR, G., MARTINSDÓTTIR, E., JÓNSON, E. H. (1997) Rapid gas sensor measurements to determine spoilage in capelin (*Mallotus villosus*). (*Gyors gáz érzékelő mérések capelin (Mallotus villosus) romlásának megállapítására.*) J. Agric. Food Chem., 45: 2654–2659.
- OLSSON, J., BÖRJESSON, T., LUNDSTEDT, T., SCHNÜRER, J. (2002) Detection and quantification of ochratoxin A and deoxynivalenol in barley grains by GC–MS and electronic nose. (*Ochratoxin A és deoxynivalenol meghatározása és mennyiségi értékelése árpaszemekben GC-MS és elektronikus orr segítségével.*) Int. J. Food Microbiol., 72: 203–214.
- PÁEZ, R., TAVERNA, M., CUARLÓN, V., CUATRIN, A., ETCHEVERRY, F., DA COSTA, L. H. (2003) Application of ATP-bioluminescence technique for assessing cleanliness of milking equipment, bulk tank and milk transport tankers. (*ATP bio-lumineszcencia technika alkalmazása fejőberendezések, tej tartályok és tejszállító járművek tisztaságának megállapítására.*) Food Protection Trends, 23: 308–314.
- QUINN, B. P., MARIOTT, N. G., ALVARADO, C. Z., EIGEL, W. N., WANG, H. (2002) HACCP plan assessment of Virginia meat and poultry processing plants. (*HACCP terv értékelése virginiai hús és baromfi feldolgozó üzemekben.*) Dairy, Food Environ. Sanit., 22: 858–867.
- RAMALCO, R., CUNHA, J., TEIXEIRA, P., GIBBS, P. A. (2001) Improved methods for the enumeration of heterotrophic bacteria in bottled mineral waters. (*Javított módszerek heterotró baktériumok számlálására palackozott ásványvizsekben.*) J. Microbiological Methods, 44: 97–103.
- RICHARDS, J. C. S., JASON, A. C., HOBBS, G., GIBSON, D. M., CHRISTIE, R. H. (1978) Electronic measurement of bacterial growth. (*Baktériumszaporodás elektronikus mérése.*) J. Phys. E.: Sci. Instrum., 11: 560–568.
- ULE, P. (1997) Measurement of microbial activity by impedance. (*Mikroba aktivitás mérése impedanciával.*) In: Tortorello, M. L., Gendell, S. M. (eds.) Food Microbiological Analysis. Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, Hong Kong, pp. 305–314.
- SZIGETI, E., FARKAS, J. (2000) Use of conductimetric technique for data capture in predictive microbiology. (*Konduktimetriás technika alkalmazása adatgyűjtésre az előrejelző mikrobiológiában.*) Acta Alimentaria, 29: 307–314.
- TSUNG TAN, T., SCHMITT, V. O., LUCAS, Q., ISZ, S. (2001) Electronic noses and electronic tongues. (*Elektronikus orrok és elektronikus nyelvek.*) Lab-Plus International, September/October, pp. 16–19.

Az Európai Bizottság által finanszírozott projektek

- AIR3 CT94–2283 European concerted action on „Evaluation of fish freshness” (*Európai összehangolt akció a „Hal frissességének értékelése” témában.*)
- FAIR–CT96–1037 Improving methods and protocols used to ensure the microbiological quality of bottled mineral waters (*A palackozott ásványvizsek mikrobiológiai minőségének biztosítására alkalmazott módszerek és vizsgálati előírásai javítása.*) Co-ordinator: Prof. Milton S. DA COSTA Lab. of Microbiology Universidade de Coimbra Centro de Neurociencias de Coimbra Coimbra, Portugal Tel.: +351-39-24024; Fax: +351-39-26798 e-mail: milton@cygnus.ci.uc.pt
- FAIR–CT96–1120 (MOULDETECT) Rapid detection systems for mould contamination (*Penész szennyezettséget detektáló gyors módszerek.*) Co-ordinator: Dr. Marian Kane Immunodiagnosics, National Diagnostics Centre National University of Ireland, Galway, Ireland Tel.: +353-91-586 559; Fax: +353-91-586 570 e-mail: marian.kane@ucg.ie (lásd még: FLAIR-FLOW egyoldalasok: FFE 396/01/SME6)
- FAIR–CT98–3436 (PROFILE–QD) Electronic profiling of food and beverage odor for quality determinations (*Élelmiszer és ital illatának elektronikus profilozása minőség meghatározáshoz.*) Co-ordinator: Dr. Tim Gibson University of Leeds 175 Woodhouse Lane LS2 3AR Leeds, Yorkshire, U. K. Tel.: +44-113-233 2599; Fax: +44-113-233 2593 e-mail: Bmbtdg@Leeds.Ac.Uk
- IC15–CT98–0901 Developing a rapid screening method for the assessment of the quality of dry food

ingredients using NIR spectroscopy (*Gyors szűrő-módszer kifejlesztése száraz élelmiszer alkotórészek minőségének megállapítására NIR spektroszkópiával.*)

- Co-ordinator: Meinhard Missbach Laborchemie Geraetevertriebsges. m.b.H. Kanitzgasse 21 A-1238 Vienna, Austria Tel.: 222-889-28-01; Fax: 222-889-23-55
- QLK1–1999–00343 (MICROSENSOR) onstruction of miniaturised free flow electrophoresis (mFFE) incorporating dedicated sensor for real-time analysis of food contaminants (*Miniaturizált szabadáramlású elektroforézis (mFFE) szenzor konstrukciója élelmiszerszennyezők „real time” elemzéséhez.*) Co-ordinator: Dr. Pradip Patel. Leatherhead International Ltd. Consultancy and Research Randalls Road KT 22 7RY Leatherhead, Surrey, U.K. Tel.: +44-1372-376761 e-mail: ppatel@lfra.co.uk
- QLK1–2000–00936 (QTEPACK) Advanced electromagnetic solution for quality testing of packaging for horti-fruit products (*Fejlett elektromágneses megoldás gyümölcsök csomagolás közbeni minőségvizsgálatára.*) Co-ordinator: Dr. Jose Maria Martinez-Iglesias Talleres Danmar SA Wifredo 794–796, O891 Badalona, Spain Tel.: +34 934 601 593 e-mail: mziglesias@danmar.es
- QLK1–2000–01036 (MICROQUAL) Microbiological quality monitoring of sterilised milk using innovative electrical, magnetic, electromagnetic and optical technologies for rapid reliable and sensitive detection of the total spoilage. (*Sterilizett tej mikrobiológiai minőségfigyelése innovatív elektromos, mágneses, elektromágneses és optikai technológiák alkalmazásával a romlás gyors, megbízható és érzékeny detektálására.*) Co-ordinator: Dr. Christine Mielcarek Ecole de Biologie Industrielle 32, Boulevard du Port 95094 Cergy-Pontoise Cedex France Tel.: +33-1-307 56255; Fax: +33-1-307 56251 e-mail: c.mielcarek@ipsl.tethys-software.fr
- QLK1–2000–01763 (ENOSEFOODMICRODETECT) Rapid detection of microbial contaminants in food products using electronic nose technology. (*Élelmiszerek mikrobás szennyezőinek gyors detektálása elektronikus orr technológiával.*) Co-ordinator: Dr. Naresh Magan Cranfield University Institute of Bioscience and Technology MK43 OAL Silsoe, Bedford United Kingdom Tel.: +44-1234-754339; Fax: +44-1234-750907 e-mail: N.Magan@Cranfield.ac.uk
- QLRT–2001–02545 (TTI-MEATSAFETY SYSTEM SMAS) Development and application of a TTI based safety monitoring and assurance system (SMAS) for chilled meat products (*TTI-alapú biztonság figyelés és minőségbiztosítási rendszer (SMAS) kifejlesztése és alkalmazása hűtött hústermékeknek.*) Co-ordinator: Prof. Dr. Petros Taoukis National Technical University of Athens Chemical Engineering Division of Process and Product Development Lab. Food Chemistry & Technology 5 Iroon Polytechniou 15780 Athens, Greece Tel.: +30-1-07723171; Fax: +30-1-07723163 e-mail: taoukis@chemeng.ntua.gr

Köszönetnyilvánítás

A szerző háláját fejezi ki Mrs. Marta Vidal-nak a kézirat átnézéséért és az Európai Bizottságnak amiért finanszírozta jelen dokumentum készítését a Flair Flow Europe (No. QLK1–2000–00040) projektben az 5. Keretprogram 1. Kulcskézletje keretében.

Szerző: Prof. Dr. Farkas József
akadémikus
Magyar Élelmiszeripari Tudományos
Egyesület