



Élelmiszertudományi Kar

***MŰSZERES GYORSMÓDSZEREK ALKALMAZÁSA
SERTÉSHÚS MINŐSÉGVÁLTOZÁSÁNAK
JELLEMZÉSÉRE***

**Készítette:
Magyarné Horváth Kinga**

**Konzulens:
Prof. Farkas József
MTAT**

**Készült a Budapesti Corvinus Egyetem
Élelmiszertudományi Karának
Hűtő- és Állatitermék Technológiai Tanszékén**

Budapest, 2009

A doktori iskola

megnevezése: Élelmiszertudományi Doktori Iskola

tudományága: Élelmiszertudományok

vezetője: Dr. Fodor Péter,
Egyetemi tanár, DSc
Budapesti Corvinus Egyetem

Témavezető: Dr. Farkas József
Professzor Emeritus, MTAT
Hűtő- és Állatitermék Technológiai Tanszék
Élelmiszertudományi Kar
Budapesti Corvinus Egyetem

A doktori iskola- és a témavezető jóváhagyó aláírása:

A jelölt a Budapesti Corvinus Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, a műhelyvita során elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, ezért az értekezés védési eljárásra bocsátható.

.....


Az iskolavezető jóváhagyása

.....


A témavezető jóváhagyása

A Budapesti Corvinus Egyetem Élettudományi Területi Doktori Tanácsának 2009. 06. 9-ki határozatában a nyilvános vita lefolytatására az alábbi bíráló Bizottságot jelölte ki:

BÍRÁLÓ BIZOTTSÁG:

Elnöke:

Fekete András, DSc

Tagjai:

Hodúr Cecília, PhD

Kiskó Gabriella, PhD

Salgó András, DSc

Szekér Krisztina, PhD

Titkár:

Kiskó Gabriella, PhD

Opponensek:

Beczner Judit, CSc

Kaffka Károly, CSc

TARTALOMJEGYZÉK

TARTALOMJEGYZÉK	1
1. BEVEZETÉS	6
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	8
2.1. Hús jellemzése.....	8
2.1.1. <i>Hús fogalma, szerepe</i>	8
2.1.2. <i>A hús, mint vitaminforrás</i>	9
2.1.3. <i>A hús színe és annak alakulása</i>	9
2.1.4. <i>A hús vágás utáni érési folyamatai</i>	12
2.1.5. <i>A friss hús romlása</i>	14
2.2. Vizsgálati technikák	19
2.2.1. <i>Impedimetria</i>	19
2.2.2. <i>Elektronikus orr</i>	21
2.2.3. <i>Közeli infravörös spektroszkópia (NIR)</i>	25
2.2.4. <i>Prediktív mikrobiológia</i>	29
2.2.4.1. <i>A prediktív modellek alkalmazási területei</i>	30
2.2.4.2. <i>ComBase program</i>	32
3. CÉLKITŰZÉS	34
4. ANYAG ÉS MÓDSZER	35
4.1. Anyag	35
4.2. Mérési módszerek.....	35
4.2.1. <i>Mikrobiológiai mérések</i>	35
4.2.2. <i>pH mérés</i>	36
4.2.3. <i>Automatikus impedimetriás mérés</i>	37
4.2.4. <i>Elektronikus orr mérés</i>	38
4.2.5. <i>Közeli infravörös spektroszkópiás mérés</i>	40
4.2.5.1. <i>Transzfelxiós NIR</i>	40
4.2.5.2. <i>Reflexiós NIR</i>	41
4.3. Az alkalmazott statisztikai módszerek	41
4.3.1. <i>Főkomponens analízis (Principal Component Analysis, PCA)</i>	41
4.3.2. <i>Diszkriminancia analízis (Canonical Discriminant Analysis, CDA)</i>	42

4.3.4. <i>Részleges Legkisebb Négyzetek módszere (PLS)</i>	43
5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉS	45
5.1. Szeletelt sertéskaraj baktériumos romlásának nyomonkövetése.....	45
5.1.1. <i>Mikrobiológiai vizsgálatok</i>	45
5.1.2. <i>Baktériumok szaporodásának nyomonkövetése szeletelt sertéshúson automatikus impedimetriás mérésekkel</i>	50
5.1.3. <i>Szeletelt sertéshúson baktériumok szaporodásának nyomonkövetése elektronikus orr mérésekkel</i>	54
5.1.4. <i>Közeli infravörös spektroszkópiás mérések szeletelt sertéshús frissességének és romlásának gyors becslése</i>	67
5.2. Darált sertéshús baktériumos romlásának nyomonkövetése.....	76
5.2.1. <i>Mikrobiológiai vizsgálatok</i>	76
5.2.2. <i>Közeli infravörös spektroszkópiás mérések darált sertéshús romlásának gyors becslésére</i>	80
6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	86
7. ÖSSZEFOGLALÁS ÉS KÖVETKEZTETÉS	87
8. SUMMARY AND CONCLUSION	92
9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	96
10. IRODALOMJEGYZÉK	97

1. BEVEZETÉS

Napjainkban egyre több tanulmányt olvashatunk arról, mennyire fontos az élelmiszeripari termékek jó minősége és az élelmiszer-biztonsági követelményeknek való megfelelés, ennek ellenére Magyarországon az utóbbi időben egyre több élelmiszer - ezen belül hús is- kerül lefoglalásra.

Sokszor okoz problémát a lejárt minőségmegőrzési idő, illetve egyéb helytelen technológiai tevékenység következtében az érzékszervi tulajdonságok és a minőség romlása. Ezen tényezőkhez hozzájárul az élelmiszer kereskedelem és forgalmazás nagymértékű kiszélesedése, illetve a sokszor ellenőrizhetetlen higiéniai állapotok.

Az élelmiszer-tartósítás, illetve az élelmiszer-mikrobiológia jövőjét nagymértékben befolyásolja a fogyasztói szokások és igények változása. A vásárlók minimális mértékben feldolgozott, illetve félkész – könnyen elkészíthető - élelmiszereket keresnek, melyek kiváló minőségűek, tárolhatósági idejük megfelelően hosszú, és mikrobiológiailag biztonságosak.

A „friss” termékek iránti igény nő, amelyek eredeti állapota a feldolgozás során a lehető legkevésbé változik, mesterséges, illetve kémiai tartósítószerektől mentesek, megfelelnek a korszerű táplálkozás-élettani követelményeknek. A vásárlók „frissebbnek” érzik az ún. „minimálisan kezelt”, hűtött élelmiszereket.

A hűtött termékek kategóriája magában foglalja azokat a termékeket, amelyek frissek, de különböző módon hűtöttek és a hőmérsékletük fagyáspont feletti, de 4°C-nál kevesebb (ANON 1990.). A hűtés döntő szerepet játszhat az élelmiszer-kínálat térben és időben történő bővítésében, az élelmiszer-veszteségek csökkentésében, a hatékony elosztás biztosításában és a megfelelő tápértékű termékek minőségének megőrzésében.

A húsfeldolgozás és -forgalmazás mind minőségmegőrzési, mind élelmiszer-biztonsági szempontból az élelmiszerláncnak a legkockázatosabb része. A vágóállatok elsődleges feldolgozásának higiénétől és a hús hűtláncának hőmérsékletétől függően a baktériumos szennyezettség mértéke, mibenléte változik, és a baktériumok gyors elszaporodása meghatározó jelentőségű az eltarthatóság és a biztonságos fogyaszthatóság szempontjából.

Az EU Bizottságának rendelkezése a húsipari vállalatoktól és forgalmazóktól hatékony hús-higiéniái önellenőrzést követel meg, ami egyidejűleg sok minta gyors vizsgálatát teszi szükségessé, és a hagyományos mikrobiológiai vizsgálattal annak idő-és munkaigényessége miatt aligha megvalósítható. A hagyományos módszerekkel az élelmiszerben lévő mikroorganizmusok detektálása és számlálása nagy időigényű (2-5 nap) és munkaigényes.

Az élelmiszerláncban általános igény mutatkozik gyorsmódszerekre, hogy nyomon kövessék a mikrobiológiai minőséget, és azonosítsák a higiéniai és biztonsági problémákat, hogy ezáltal időben elindíthatóak legyenek a megfelelő korrekciós eljárások.

Célom az volt, hogy megvizsgáljam több, relatíve gyors, fizikai és automatizálható „szűrő” módszerek kialakításának lehetőségét, amellyel az élelmiszerláncban lévő nagyszámú minták mikrobiológiai állapotát meg lehet becsülni.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Hús jellemzése

2.1.1. Hús fogalma, szerepe

Húsnak nevezzük általában a vágóállatok emberi élelemként alkalmas minden részét, valamint az ezekből előállított húskészítményeket (pácolt és füstölt húсарukat, kolbászféléket stb.). Szűkebb értelemben vett húson a vázizomzatot értjük, de ide tartoznak a vágóállatok emberi fogyasztásra alkalmas részei is, a kötőszövet (kollagén, elasztin, vér, nyirokerek, hámszövet) és az egyéb szervek (máj, tüdő, vese, szív és különböző mirigyek) (LÁSZTITY, TÖRLEY 1993). „Vöröshús” névvel illetik a marha-, sertés- és juhhúst, „fehérhúsok” közé pedig a csike-, pulyka- és halhúst sorolják. Emészthetőség szempontjából a vöröshúsokat kedvezőtlenebbnek ítélik meg, pedig hőkezeléssel ezen húsok emészthetősége nagyban javítható.

A hús (állati eredetű fehérje) fogyasztása biológiailag azért szükséges, mert amíg a növényi szervezet a talaj nitrogénjéből és egyéb elemeiből, a levegő oxigénjéből és szénforrásából (CO₂) fehérjét tud képezni, addig az emberi (állati) szervezet sejtjeit, szöveteit csak a táplálkozás során kapott fehérjékből tudja felépíteni és megújítani. Fehérjét mind az élő szervezet, mind a táplálékaink közül a növények is tartalmazzák. Mégsem élhetünk hús, illetve állati fehérje nélkül, mert az állati fehérjében vannak a nélkülözhetetlen (esszenciális) aminosavak. Ezeket szervezetünk nem tudja előállítani, csak állati eredetű tápanyagokból pótolhatja.

A hús az emberi szervezet fejlődéséhez, működéséhez szükséges tápanyagok jelentős részét megfelelő mennyiségben és arányban tartalmazza. Jellemző, hogy a fiatal, izomrostokban gazdag állatok húsa könnyen emészthető. A húsok zsírtartalma az energiaellátásunkban játszik szerepet, illetve kivonatanyagaik elősegítik az emésztőnedvek termelődését. A húsból számos kedvező hatása mellett sokféle, változatosan elkészíthető étel és húsfeldolgozási termék állítható elő.

(LŐRINCZ, LENCSEPETI 1973; HORVÁTH 2005)

2.1.2. A hús, mint vitaminforrás

Az emberi szervezet életműködésének fenntartásához nemcsak olyan tápanyagok kellenek, amelyek energiát szolgáltatnak (zsírok, fehérjék, szénhidrátok), hanem olyan természetes szerves vegyületek is, amelyekből csak kis mennyiségre van szükség. Ilyenek a vitaminok, amelyek nélkülözhetetlenek, ugyanis szabályozzák az anyagcserét, az energiaforgalmat, az enzimműködést és a szervezet megújítását. A vitaminok két nagy csoportba sorolhatók: zsírban oldódó (A, D, E, K) és vízben oldódó (B-csoport, C) vitaminok.

A húsok a *B-vitamincsoport* tagjait (B₁, B₂, niacin, B₆, B₁₂) tartalmazzák jelentős mennyiségben. (Hiányukban fáradékonyság, gyulladás, álmatlanság, vérszegénység léphet fel.) Különösen kiemelkedő a sertéshús B₁-vitamintartalma, amely más állatok húsához viszonyítva ötszörös mennyiségű. Zsírban oldódó vitaminokat az izomszövet/vázizom kis, a belsőségek viszont nagy mennyiségben tartalmaznak, elsősorban *A- és D-vitamint*. (Az A-vitamin hiányában látáskárosodás, míg a D-vitamin hiányában csontképzési rendellenesség lép fel.) (CSISZÁR 1964; GÁRGÁNY 1986)

2.1.3. A hús színe és annak alakulása

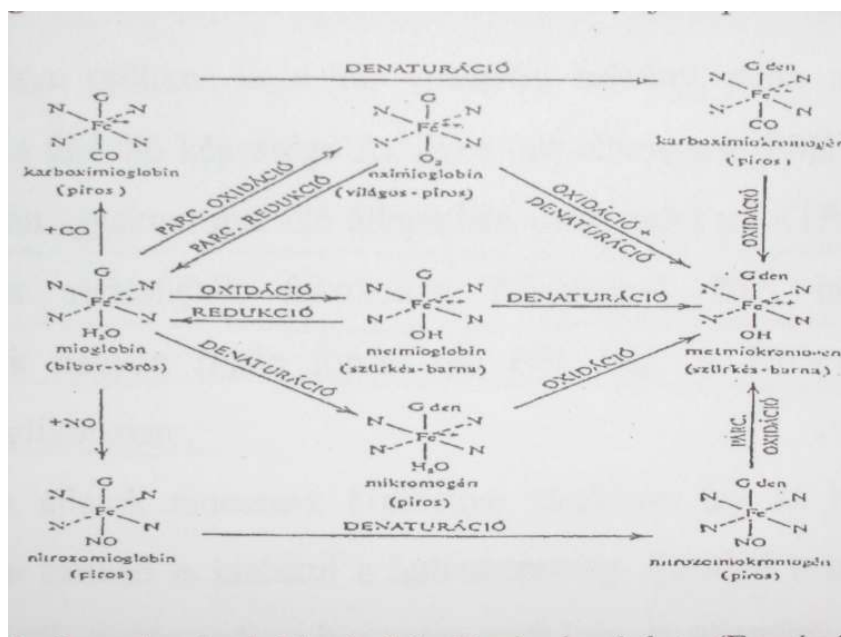
A friss hús eladhatósága szempontjából az egyik legfontosabb minőségi paraméter a szín, hiszen a fogyasztó ezzel a tulajdonsággal szembeül először a kereskedelmi egységekben. A felületi elszíneződés elkerülhetetlen, és a gyakorlatban a fogyasztásra alkalmatlan terméknek mutatójává vált, annak ellenére, hogy a színromlás jóval előbb bekövetkezik, mint a mikrobiológiai romlás.

A hús színét és a szín tartósságát több tényező is befolyásolja, így pl. a hús fizikai tulajdonságai, a tárolási hőmérséklet és a fényintenzitás, valamint a húsban lévő pigmentek koncentrációja, de leginkább ezek oxidációs állapota. Ahhoz, hogy az elfogadható szín megőrzésének időtartamát növeljük a pigmentoxidációt késleltetni és az oxidált pigment redukcióját fokozni kell. (MIHÁLYI 1993; PÁSZTORNÉ, KISS 2006)

A húsban lévő elsődleges színanyag a mioglobin (az izom pigmentje). A mioglobin színanyaga a hemoglobinhoz (vér pigmentje) hasonlóan a hem csoport, de a mioglobinban csak egy fehérjeegység van (globin). A hem központi ferroionjának hat koordinációs kötése közül a négy egy síkban levőt a porfirinváz köti meg, az erre a síkra merőlegesek közül az egyik a hisztidin imidazol gyűrűjének bázikus nitrogénjét, a másik egy molekula vizet köt meg hidrogénhid segítségével.

Mivel ez utóbbi kötés nem stabil, a vízmolekula könnyen lecserélődik más, elektronban gazdag molekulára vagy ionra.

A hússzín jellemzője a mioglobin és származékai által meghatározott színárnyalat, az ezek koncentrációjával összefüggő telítettség, valamint a hús kolloidkémiai szerkezetével összefüggő fizikai jellemzők által befolyásolt világosság (halványság). A mioglobin koncentrációja a hús fajtától, az izomtípustól és a kortól függ. Minél öregebb az állat, annál nagyobb az izomszövet mioglobin tartalma (RENERRE 1990, MIHÁLYI 1993). A mioglobin (Mb), más néven deoxi – mioglobin - bíborvörös színű pigment csak nagyon alacsony O_2 koncentráció mellett fordul elő. Nagyobb O_2 nyomás mellett az oxigén molekula addicionálásával élénkpiros (cseresznyepiros) oximioglobin (MbO_2) keletkezik. Ez a cseresznyepiros szín a fogyasztók tudatában a frissességgel párosul. Az oximioglobinban a vas a mioglobinhoz hasonlóan redukált formában (Fe^{2+}) van jelen. Az oximioglobin azonban nem stabil, és a vas oxidációjának hatására (Fe^{3+}) metmioglobinná (MetMb) alakul, ami kedvezőtlen, szürkés-barnás színt okoz a húson. A folyamat kémiai kapcsolatait az **1. ábra** szemlélteti.



1. ábra. A mioglobin átalakulása (LŐRINCZ, LENCSEPETI 1973)

A MbO_2 ellenállóbb az oxidációs hatásokkal szemben, mint a Mb. Amennyiben az O_2 parciális nyomása 4 Hgmm, a metmioglobin képződésnek maximuma van. Ennél kisebb oxigén nyomás mellett nő a mioglobin, nagyobb nyomás mellett pedig az oximioglobin részaránya. A három mioglobin-származék közötti reakciók reverzibilisek. Ha friss metszést vágunk, a felületen

oximioglobin képződik, ami az oxigén diffúziójától függően fokozatosan vastagodik. Ezt a jelenséget a húsiparban átpirosodásnak nevezik. Az oxigén diffúzióját elsősorban a hőmérséklet és a pH befolyásolja – a 0°C körüli és alacsony pH-jú hús gyors és intenzív átpirosodást mutat, mert az oxigént felhasználó enzimek aktivitása ilyen körülmények között minimális, emellett az alacsony hőmérséklet elősegíti az oxigén oldódását a szöveti folyadékban. Az oximioglobin réteg vastagsága egy ideig nő, de a szín romlása – a metmioglobin képződése előbb-utóbb elkerülhetetlen (BOLES, PEGG 2000).

A vágást követően lehűtött friss húsoknál, amelyeknek még nagy a redukáló képessége, néhány napig vastagodik az oximioglobin réteg, de határa végül a felülethez közelebb húzódik. A hosszabb ideig tárolt húsok redukálóképessége csökken, emiatt a belső miogloblin és a felületi oximiogloblin réteg között egy harmadik, barnás színű metmiogloblin réteg jelenik meg, ami egyre vastagodik, miközben az oximiogloblin réteg vékonyodik. A hús MetMb-redukáló enzimet tartalmaz, ennek működéséhez szükséges redukált koenzimek mennyisége idővel elfogy az oxigén felhasználás eredményeként. A MetMb képződést magas hőmérséklet, kis pH, sózás, fémnyomok, valamint a lipidoxidáció elősegíti.

A kezdődő színromlás akkor észlelhető érzékszervileg, amikor a metmiogloblin részaránya az 50%-ot eléri, a kifejezett elszíneződés pedig 70%-os részarányt meghaladó metmiogloblin jelenlétében lép fel.

A jelenlegi gyakorlatban elengedhetetlen a oximiogloblin réteg jelenléte az üzletekben található húsok esetében. A húsnak azt a képességét, hogy kedvező, piros színét a tárolás alatt megőrzi, színstabilitásnak nevezzük. Ennek javítását egyrészt nagy (65-85%) oxigéntartalmú – védőgáz - és módosított légterű csomagolási módszerekkel, másrészt az antioxidánsokkal kiegészített takarmányozással érik el. (LÁSZTITY 1981; BREWER et al. 2001)

2.1.4. A hús vágás utáni érési folyamatai

A vágás és elvéreztetés után az izomszövetekben, azaz a színhúsban végbemenő biokémiai folyamatok megváltoznak. Először megszűnik az izomszövet oxigénellátása, továbbá az egyéb szervekkel, elsősorban a májjal való kapcsolata. Az oxigénellátás megszűnésével az energiatermelő mechanizmus leáll, és a hús ún. másodlagos változásai kerülnek előtérbe, amelyek a hús minőségét (érését) és romlását meghatározzák.

A pre-rigor, vagyis a hullamerevség előtti fázisban a frissen vágott hús redoxpotenciálja az oxigénellátás megszűnésével csökken. A terminális oxidáció lehetetlenné válik, így csak töredék mennyiségű ATP képződik anaerob körülmények között. A hullamerevség (rigor mortis) állapotában bekövetkezik az izmok merevedése, a pH a savas irányba tolódik el.

A rigor mortis kialakulásával egyidőben az anaerob viszonyok miatt más húsalkotók is megváltoznak. A szénhidrátok, elsősorban a glikogén anaerob lebomlása során keletkező tejsav (laktát) a szervek közötti kapcsolat megszűnése miatt az izomszövetben marad, és ennek következtében a szövetben uralkodó semleges kémhatás 5,3-5,5 pH értékre csökken, ami a hús izoelektromos pontjához közelítve meghatározza a hús vízmegtartó és vízkötő képességét. Ezek a változások erősen befolyásolhatják a hús feldolgozhatóságát, tárolhatóságát és a hibás húsok (DFD, PSE) eltérő technológiai viselkedését.

A hullamerevség utáni állapot (post rigor) során a hús fokozatosan puhul, az ízt és az egyéb érzékszervi tulajdonságokat javító változások ekkor következnek be (INGRAM, SIMONSEN 1980).

A húsfeldolgozás során a szokásos normális húsérési folyamat a fentiekben leírt három szakasz összessége. Normál esetben, az izomszövetben a glükóz lebomlásának következtében a pH néhány óra alatt 6,0 értékre csökken, majd a savanyodás egyenletesen folytatódik, és 24 óra múlva kb. 5,5 érték mérhető. A vágás utáni pH-csökkenés sertéshúsban gyorsabban zajlik le, mint marhahúsban, és a fehér izmokban általában gyorsabb a pH-csökkenés, mint a vörösekben.

Bizonyos esetekben azonban a húsérés másképp alakul. Ha az izomszövet lényegesen több glükózt tartalmaz, akkor a pH már egy óra alatt 5,0 értékre csökken, majd 24 óra múlva kb. 5,2-re módosul. Ezeket nevezzük PSE húsnak (halvány: **P**ale, puha: **S**oft és vizenyős: **E**xudative). A PSE húst adó állatok izmában gyakran már élő állapotban megindul az ATP-bomlás és a pH-csökkenés. Egyes sertésfajták fokozottan hajlamosak PSE hús kialakítására. Marhahúsban csak nagyon ritkán fordul elő PSE hús. A fehér izmok általában hajlamosak gyors glikolízisre.

Gyakori, hogy vágáskor az állatok nincsenek kipihenve, így az izomban kevés a glikogén. Az ilyen húsban is kialakul a hullamerevség. Ilyenkor a pH nagyon lassan csökken, kismértékű a savanyodás, és a hús kémhatása 24 óra után is majdnem semleges. Az ilyen hús színe sötét lesz, az állomány feszes, léeresztés nincs, a hús ragadós tapintású, rágós és könnyen romlik. Ezen tulajdonságokat leíró angol szavak kezdőbetűiről DFD (sötét színű: **D**ark, keményebb: **F**irm, száraz tapintású: **D**ry) húsnak nevezik ezt a húsminőséget. DFD hús marhában és sertésben is előfordul. A DFD hús maradék glikogént nem vagy alig tartalmaz. Normál esetben a húsban a glikogén lebomlása nem teljes, a húsban mindig marad, ha csekély mennyiségben is. A maradék glikogén függ a kezdeti mennyiségtől: sok kezdeti glikogén esetében a maradék is több (LŐRINCZ, LENCSEPETI 1973).

A PSE húst nagy arányban tartalmazó hústétel sok esetben nem alkalmas vörösárugyártásra a rossz vízmegkötő képessége miatt. Ellentétben a DFD hússal, melynek kiváló a vízmegkötő képessége, így alkalmas alapanyag. Hátránya azonban a DFD húsnak, hogy romlásra hajlamosabb, így a fehérjebomlás jelei előbb jelentkeznek.

Elmondható tehát, hogy a megfelelő hústárolásnál fokozott szerepe van a pH-nak és annak változásainak is. Ennek fontossága miatt számos kutató foglalkozott ezzel a témakörrel (BARBUT 1996; AHN et al. 2001).

2.1.5. A friss hús romlása

A vágóállatok izomzatában – a fertőzött és beteg állatok kivételével - nincs baktérium, ezért sterilnek tekinthető (BÍRÓ, BÍRÓ 2000). A Gram-pozitív mikroorganizmusok az állatok izomzatának fertőzését tudják okozni, amelynek előfordulása rendkívül ritka. A Gram-negatív baktériumok a környezetből kerülnek az állatra. A húson levő mikrobás szennyeződés elsődleges forrása a külső bőrfelület és a bélsár. A hús további szennyeződése a különböző eszközökről és berendezésekről, illetve az emberi kézről származik (VANDERZANT, NICKELSON 1969; TAKÁCS 1971).

A húsipar gyorsan romló, a mikroorganizmusok számára kitűnő táptalajként szolgáló nyersanyagot dolgoz fel. A darabolt hús felületén kezdetben az összes baktériumszám 10^3 - 10^5 lehet egy cm^2 -en. Ez összefügg azzal is, hogy a kések, eszközök, vágóasztalok is szennyezettek lehetnek, amelyek a helytelen higiéniai feltételek és gyakorlat következményei. Ezért a technológiai műveletek során maximálisan ügyelni kell a közegészségügyi, állat-egészségügyi előírások betartására, mivel ezek megszegése nagyobb mennyiségű hús romláshoz vezethet, és közvetve a fogyasztók egészségét veszélyeztetheti.

A kezdeti szennyeződésen kívül a nyers hús romlásában szerepet játszik a hús feldolgozottságának mértéke (pl.: felvágott hús, darált hús), a pH, a környezeti relatív páratartalom és a tárolás hőmérséklete (INGRAM, DAINTY 1971). Ennek következményeként vágás után a nyers húst rögtön le kell hűteni, mert különben gyorsan megindul a baktériumos romlás.

A hűtött termékek szempontjából az egyik legfontosabb tényező a hőmérséklet. Alacsony hőmérsékleten a mikroorganizmusok anyagcseréje lelassul, de a szaporodás minimális hőmérséklete tekintetében a baktériumok különbözősége miatt elég nagy a variációk száma. Különböző csoportokba sorolhatjuk a baktériumokat: pszichrofil, pszichrotróf, mezofil, termofil, aminek értelmében igen változatos a növekedési hajlandóságuk az áruforgalmazás hőmérséklet-tartományában (THUMEL 1995). Ezeknek a csoportoknak a szaporodási hőmérséklet karakterisztikáit a **1. táblázat** foglalja össze.

1. táblázat Baktériumok szaporodási hőmérséklet-karakterisztikái
(BÍRÓ et al. 2001)

Csoport	Minimum (°C)	Optimum (°C)	Maximum (°C)
<i>pszichrofil</i>	-5-+5	12-15	15-20
<i>pszichrotrof</i>	-5-+5	25-30	30-35
<i>mezofil</i>	5-15	30-45	35-47
<i>termofil</i>	40-45	55-75	60-90

A baktérium szaporodása szempontjából optimálisnak számít az üzemi hőmérsékleti körülmény. A megromlott hús szagáért elsősorban az aminosavak, azok közül is a bázikus aminosavak dekarboxileződésekor keletkező aminok egy része felelős. Ezekben az esetekben a baktériumok dekarboxiláz enzimjei az aminosavakat biogén aminokká (pl. ornitinből putreszcin, lizinből kadeverin stb.) alakítják át. Ezeket a diaminokat ptomain gyűjtőnéven is emlegetik, mint a rossz szagért felelős vegyületek.

A mezofilek csoportjába tartozó baktériumok szaporodása 0-4°C-os hűtőtárolás során gátolt. Ezen a hőmérsékleten az egészségügyi veszélyt jelentő baktériumok általában nem szaporodhatnak el.

A hús és hústermékek esetében a mikrobiológiai biztonság és eltarthatósági idő problémája összekapcsolódik (ROSS, MCMEEKIN 1999) és ebben a tárolási hőmérséklet az egyik legfontosabb elem. (MCDONALD, SUN 1999). A gyors baktériumszaporodás a nyers hús esetében korlátozza a tárolhatóság időtartamát, még hűtött állapotban is. A hűtött tárolásnál a 7°C-os tárolási hőmérséklet a felső határ.

Hűtött körülmények között (20°C alatti hőmérséklet) a hidegkedvelő baktériumok szaporodnak el. 10-15°C között tárolt darabolt húson 4-5 nap alatt szintén szagrendellenesség és felületi nyálkásodás jön létre.

Hűtött aerob körülmények között tárolt húsok esetében a Gram-negatív pszichotróf mikroorganizmusok közül a *Pseudomonas*-ok válnak dominánssá (*Ps. fragi*, *Ps. fluorescens*), mert 2-15°C között gyorsabban szaporodnak, mint más specifikus mikroorganizmusok, sőt 5°C is elegendő a szaporodásukhoz (DAINTY, MACKEY 1992; BORCH et al. 1996).

Aerob viszonyok között a tárolt húson a pszeudomonaszok gyorsan uralomra jutnak. A pszeudomonaszok dominanciája annál erősebb, minél alacsonyabb a hőmérséklet. Mindaddig nem figyelhető meg kölcsönhatás az egyes fajok között, amíg a maximális sejtszámot el nem érik, ekkor azonban a pszeudomonaszok hatására a versengő fajoknak csökken a szaporodási sebessége és a maximális sejtszáma (GILL, NEWTON 1977; GRAM et al. 2002; MEAD 2004; LIU et al. 2006).

A *Pseudomonas* nemzetség a Gram-negatív baktérium csoportokat egyesítő Proteobacteria törzs gamma osztályába tartozik. A pszeudomonaszok aerob, kataláz-pozitív, jellemzően oxidáz-pozitív, pálcá alakú, poláris ostorral mozgó baktériumok, kemoorganotrof anyagcserét folytatnak, és semleges körüli pH-n növekednek a mezofil hőmérséklet tartományban. Egyes fajaik háztartási hűtőszekrény hőmérsékleten is képesek szaporodni. Tápanyag ellátás szempontjából rendkívül igénytelenek: növekedésükhöz nem igényelnek növekedési faktorokat, vitaminokat, ugyanakkor a szerves vegyületek széles skáláját képesek felhasználni szén- és energiaforrásként. Egyes fajok 100-nál is több vegyületet képesek hasznosítani. Ezek között az egyszerű szénhidrátokon, zsírsavakon, aminosavakon kívül sok olyan vegyület is van (pl. szénhidrogének, szteroidok, kondenzált gyűrűjű heterociklusos vegyületek), amelyeket kevés más mikroorganizmus tud lebontani. Anyagcseréjükéből fakadóan széles körben elterjedtek a természetben, talajban, vizekben, sőt több növényi és állati kórokozó is van közöttük. Gyakran okozzák élelmiszerek, elsősorban zöldségek, húsok és húskészítmények romlását. A *Pseudomonas* nemzetség több faja termel egy sárgászöld, vízben oldható festékanyagot, amely UV fényben fluoreszkál (pl. *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. putida*) (BÍRÓ et al. 2001, DEÁK 2006).

A *P. fluorescens* pszichrofil baktérium, ezért képes a hűtött termékeken is elszaporodni, és azokban romlást előidézni. Ritkán kórokozó, mivel 37°C-on nem szaporodik jól (MADIGAN et al. 2003).

Az anaerob viszonyok között növekvő baktériumok maximális sejtszámát az erjeszhető tápanyagok a hús felületére történő diffundálásának a sebessége határozza meg. Anaerob romlás esetén a húsban elsősorban a tejsavbaktériumok válnak dominánssá. Mindkét esetben azok a baktériumok válnak uralkodóvá, amelyeknek alacsony hőmérsékleten nagy a szaporodási sebességük, és bizonyos mértékig képesek arra is, hogy más fajok szaporodását gátolják (DEÁK et al. 1980).

Minden mikroorganizmus közül a nem pigmentált pszeudomonaszok a leggyakrabban előforduló, húsromlást okozó baktériumok a normál hűtőtárolás alatt. A frissen bontott húsnál az összcsíraszámnak nem több mint 10%-át teszik ki a pszeudomonaszok, de mire a fogyasztókhöz ér, ez meghaladja a 80 %-ot (MOSEL et al. 1995).

Az aerob mikroflórát általában a pszeudomonaszok uralják, anaerob körülmények között a közvetlenül a felület alatti rétegekben a *Lactobacillus*-ok szaporodnak el inkább. Mindkét esetben azonban a hús összetevői közül a baktériumok először a kis molekulájú oldható vegyületeket bontják le, előbb a glükózt és más cukrokat, majd az aminosavakat. Aerob viszonyok között a romlás akkor válik észlelhetővé, amikor a baktériumok az aminosavakat támadják meg és ezek

bomlástermékei a hús felületén nagy mennyiségben felhalmozódnak. A *Brochothrix thermosphacta* baktérium 5°C-on, vagy ez alatt is képes szaporodni és szagrendellenességet okozni a hús felületén vagy a zsírszövetében is (INGRAM, SIMONSEN 1980).

Aerob viszonyok között kísérő flóraként a mikrokokkuszok, laktobacillusok és az *Enterobacteriaceae* tagjai is megjelenhetnek. Az egyes fajok valószínűleg nem befolyásolják egymás növekedését, anaerob viszonyok között azonban a laktobacillusok antimikrobás hatású anyagcsereterméket állítanak elő, amely gátolja a többi faj szaporodását.

A laktobacillusok a tejsavbaktériumok (*Lactobacillaceae*) családjába sorolhatók. A Gram-pozitív tejsavas kokkuszok közös jellemzője, hogy kizárólag tejsavas erjedéssel történő energianyerésre képesek, mind aerob, mind anaerob körülmények között. Az oxigénhez való viszonyuk különleges. Mint obligát erjesztők, valójában anaerobok, de elviselik az oxigén jelenlétét is, tehát aerob körülmények közt is erjesztenek és szaporodnak, ezért aerotoleráns anaerobok. (DEÁK et al. 1980) Az *Enterobacteriaceae* családba tartozó ún. bélbaktériumok közegészségügyi és élelmiszer-higiéniai szempontból rendkívül fontosak. Jelenlétük az élelmiszer szennyezettségére utal, ezért ún. indikátor mikroorganizmusok.

A húsok vágás utáni hűtőtárolását általában 0°C-on végzik. Ez a hőmérséklet természetesen nem akadályozza meg az összes baktérium szaporodását, mivel némelyik baktérium minimális szaporodási hőmérséklete -5°C, vagy alacsonyabb. A 2°C körüli tárolási hőmérséklet már jelentősen gátolja a felületi nyálkaképző, és általában a kellemetlen szagképző baktériumok szaporodását. A pszichrofil mikrobák anyagcseréje és szaporodása 2°C-on tovább folytatódik. Ezek közé tartoznak a húsiparban a hűtött húsok romlását okozó fajok is (pl. *Pseudomonas*). Ezért a 2°C-on történő tárolás önmagában nem növeli meg jelentős mértékben a tárolási időt. Amennyiben valamelyik környezeti tényező pl. a hőmérséklet az optimálistól eltér, akkor a mikroba igényessége megnő a többi környezeti tényező iránt (GILL, REICHEL 1989; BÍRÓ 2000.).

A tárolási hőmérséklet mellett fontos a páratartalom is, mert a tárolás során kialakult magasabb relatív páratartalom kedvezően hat a mikrobákra. Normál körülmények között a hűtőtárolók relatív páratartalma nagy, ami kedvez a felületi nyálkásodást okozó baktériumok elszaporodásának.

Az élelmiszerek mikrobiológiai állapotáról az egyik leghasznosabb tájékoztatást az aerob mezofil mikrobák száma adja. Az aerob mezofil mikroorganizmusok száma nagyságrendileg azonos a termékben található összes élő mikroorganizmuséval.

A mezofil aerob mikrobaszám alkalmas a friss, vagy nem tartósított élelmiszerek tárolhatósági idejének előrejelzésére is, mivel a legtöbb élelmiszerben 10^6 - 10^8 /g mikrobaszámnál a lebomlás már

előrehaladt és érzékszervileg is észlelhetővé válik. A nagy aerob mikrobaszám a romlás valószínűségére utal (DEÁK 1986; BÍRÓ 2000).

A húsok hűtő tárolásánál a hőmérséklet az egyik meghatározó tényező. A következőkben 3 csoportba sorolták a különböző hőmérsékleten tartás következtében megjelenő romlást okozó mikroorganizmusokat. A hőmérséklet csoportokat magas, közepes és alacsony tartománynak állapították meg.

I. Nyers hús romlási jelenségei magas hőmérsékleten ($> 25^{\circ}\text{C}$):

Ha a húst nem hűtik le gyorsan vágás után a megfelelő hőmérsékletre és a szövetek hosszabb ideig tartózkodnak $25\text{-}30^{\circ}\text{C}$ körül, ennek hatására idő előtt indul meg a mikrobiológiai romlás. Ennek a folyamatnak az elején először sztreptokokkuszok kezdenek el szaporodni, majd a biokémiai változások miatt anaerob viszonyok válnak uralkodóvá, és ez a klosztridiumoknak kedvez.

II. Nyers hús romlási jelenségei közepes hőmérsékleten ($15\text{-}25^{\circ}\text{C}$):

Ez a körülmény akkor alakulhat ki, ha az előhűtés nem elég gyors a vágás után, illetve ha a hús mérete nagy, mert ilyenkor gyakran marad a hús belseje sokáig melegebb, amely elegendő ahhoz, hogy megkezdődjön a csont körül a rothadás. Ezt a romlást rendszerint a klosztridiumok és bacillusok váltják ki. Közepes hőmérsékleten tárolva a húst elsősorban a fakultatív anaerob mikroorganizmusok vannak többségben.

III. Nyers hús romlási jelenségei alacsony hőmérsékleten ($0\text{-}4^{\circ}\text{C}$):

A hűtőtárolás sok esetben nem elegendő védekezés a baktériumok ellen, mert vannak olyan fajok is, amelyek minimális szaporodási hőmérséklete akár -5°C is lehet. Mindemellett a 2°C -os tárolási hőmérséklet már elegendő arra, hogy jelentősen gátolja a kellemetlen szagok kialakulást és a nyálkaképződést. Ha a tárolóhelyiség relatív páratartalma kicsi, a vágott állat felülete kiszárad, és ez a körülmény kedvez a mikrokokkuszoknak és a sztreptokokkuszoknak. Normál körülmények között a relatív páratartalom magas, ez pedig a nyálkásodást okozó Gram-negatív hidegtűrő pálcáknak kedvez (DEÁK et al. 1980).

2.2. Vizsgálati technikák

2.2.1. Impedimetria

Az impedancia a váltóáramnak a vezető anyagon való átfolyási ellenállása. Az impedimetriás készülékek a mikroba szaporodás hatására bekövetkező impedanciai változást méri a megfelelő tápközegben (VIDÁCS, BECZNER 1996, 1998). Ez a módszer azon az elven működik, hogy a tápközeg ionos összetételében történő változásokat méri, amely úgy jön létre, hogy a nagymolekulájú, gyenge vezetőképességgel rendelkező molekulákból (fehérjék, szénhidrátok, lipidek) a mikroba anyagcsere során kis molekulájú, töltéssel rendelkező metabolitok keletkeznek, amelyek a tápközeg vezetőképességét nagymértékben megnövelik (BOLTON, GIBSON 1994). A mikroba szaporodás hatására a konduktancia megnő. A konduktivitásban, illetve az ellenállásban egységnyi idő alatt bekövetkező változás mértéke mennyiségi kapcsolatban áll az induló csíraszámmal és a mikroba fajlagos szaporodási sebességével az adott tápközegben. Ebből adódóan a tápközégek nem tartalmazhatnak nagy vezetőképességgel rendelkező komponenseket. Előnye még ennek a módszernek, hogy nem befolyásolja a zavaros vagy nem átlátszó minta, ellentétben a telepszámlálással, ahol, leginkább az alacsony élőcsíraszám meghatározáskor okozhat problémát. Az impedimetrikus készülékeknél, amelyeket mikrobás populációk becslésére fejlesztettek ki, a detekciós idő fordítottan arányos az impedimetrikus közegbe beoltott minta mikroba koncentrációjával. Minél nagyobb a mikroorganizmusok száma a folyadékban, annál gyorsabb a változás az elektromos impedanciában. Ez úgy valósítható meg, hogy külön erre a célra kifejlesztettek egy kis konduktivitással rendelkező speciális összetételű tápközéget. A kereskedelmi-forgalomban napjainkban különböző műszerek állnak a rendelkezésünkre. Ezek mind kivitelezésükben, mind pedig az általuk mért jellemzőkben különböznek.

Abban az esetben, ha az idő függvényében ábrázoljuk a konduktancia változást egy a szaporodási görbéhez nagyon hasonló összefüggést kapunk. Megfigyelhető a görbén egy a lag-fázishoz hasonló kezdeti szakasz, ahol nincs vezetőképesség változás, de ez nem azonosítható magával a lag-fázissal. Azt az időtartamot, ami az impedimetriás mérés kezdete és a műszer által kiadott gyorsító impedancia jel megjelenése között van, detekciós időnek (DT) nevezik. Fontos megjegyezni, hogy a baktériumok esetében az ionos anyagcsere termék akkor válik észlelhetővé, amikor a baktérium szintek kb. 10^5 - 10^6 sejt/ml-t érnek el, vagyis ekkor ad detekciós időt (FARKAS 2003a).

A konduktancia/impedancia görbéből kapott szaporodás-kinetikai jellemzők matematikai modellezésre való felhasználhatósága tekintetében a vélemények megoszlanak. A probléma az, hogy ezeknél a méréseknél az anyagcsere- aktivitást mérjük és nem közvetlenül a sejtsűrűséget, a

detekciós időt sokkal informatívabbnak tartják, mint a mért jellemzőt, mert az lineáris összefüggést mutat a kezdeti élőcsíraszámmal.

A konduktancia/impedancia mérés kivitelezésére alapvetően két módszer ismert.

Az egyik az ún. direkt módszer: itt a mérő elektródák a tápközegbe merülnek és közvetlenül a tápközeg vezetőképesség változását mérik az idő függvényében.

A másik az ún. indirekt módszer, melyet először Owens és társai írtak le 1989-ben. Ennél a módszernél a mikrobák által termelt széndioxidot mérik, úgy hogy az elektródokat nem a tenyészetbe, hanem széndioxidot elnyelő csapdába helyezik, amely kálium hidroxidot tartalmaz a tenyészet légterében. Ezt a módszert általában akkor alkalmazzák, ha nem képződik vezetőképesség végtermék a vizsgált mikroorganizmus metabolizmusa során, vagy ha a mérésre használt tápközeg nagy mennyiségű vezetőképesség komponenset tartalmaz. Ilyen például az első esetben az élesztők vizsgálata, a másodikban pedig a nagy sótartalmú szelektív táptalaj alkalmazása.

A konduktometriás/impedimetriás készülékek kevésbé munka- és anyag igényesek, detekciós idejük általában lényegesen kevesebb (2-24 óra), mint amikor hagyományos mikrobiológiai telepszámlálási módszert alkalmaznak. A mérési eredmények gyorsan és jól reprodukálhatók, így a technika pozitív tulajdonságai miatt alkalmazási területe széles. Alkalmasnak bizonyult arra, hogy az élelmiszerekben az élő mikrobák teljes számát detektálja, új táptalaj- összehasonlító kifejlesztésére, táptalaj összehasonlító vizsgálatokra stb. Az impedimetriás műszereket az iparban is alkalmazzák, mint monitorozó rendszereket. Az élelmiszer minőség ellenőrzésében betöltött szerepükről Arnott számolt be 1993-ban.

A konduktometriát számos kutató alkalmazta. Rule (1997) élelmiszerek mikrobiális szennyezettségét határozta meg konduktometriás módszerrel. Ramalho és társai (2001) a palackozott ásványvízben az élő baktériumok megszámlálására használta az impedimetriás módszert. Nyers hús összes élőcsíraszám meghatározására alkalmazta például Firstenberg-Eden 1983-ban vagy konyhakész broiler csirkének a vizsgálatát is végezték (RUSSELL et al. 1995). Mások kombinált kezelések spóráképző baktériumokra gyakorolt hatását tanulmányozták konduktivitás méréssel (WAWERLA et al. 1999; FARKAS 2003b).

Mivel a konduktometriás módszer anyagszere aktivitást mér, ebből következtet a mikroorganizmusok számára a tápközegben, ezért alkalmas ez a módszer az eltarthatósági idő megbecslésére.

2.2.2. Elektronikus orr

A termékek minősítésére ősidők óta alkalmazzuk érzékszerveinket többek között a szaglásunkat is. A szaglás a legősibb érzékszervek közé tartozik, hiszen már a baktériumok is képesek a külvilág kémiai ingereinek felfogására. Az illatanyagok érzékelésében az emberi orr nagyon fontos szerepet játszik az élelmiszeriparban, kozmetikában és az élet számos más területén. Ezért nem meglepő, hogy számos próbálkozás történt az elmúlt években annak érdekében, hogy az emberi orrhoz hasonló műszeres megoldást hozzanak létre.

Az ilyen műszerek legtöbb esetben nem pótolják, de kiegészítik és teljessé teszik az illat anyagok érzékszervi, hagyományos analitikai módszereit. Az elektronikus orral végzett elemzés során nem az egyedi komponensek szelektív elemzése, hanem az aktuális mérés komplex jelválaszának és a korábban mért minták eltárolt jelválaszának összehasonlítása történik. Ahogy az embernek sincs szüksége arra, hogy tudatosan azonosítsa az illat minden összetevőjét, hogy felismerje azt, az elektronikus orr is minta felismerésével működik. Az érzékelő sor jelválasza minden esetben az adott mintára jellemző képet ad. Bizonyították már, hogy az elektronikus orr képes érzékelni és kategorizálni a mikroorganizmusokat a szagkibocsátásuk alapján (MIELLE et al.1995).

A mesterséges orr koncepciót a Warwicki egyetemen Persaud és Dodd 1982-ben javasolta először (PERSAUD, DODD 1982). A módszer a gáz szenzorokra alapoz, amelyek több mint 30 évvel ezelőtt kezdtek el fejlődni (BARLETT et al.1993; GARDNER, BARLETT 1993). Az 1990-es évek elején jelent meg a „mű orr”, vagy elektronikus orr, és ettől kezdve vált lehetővé kereskedelmi műszer vásárlása. Gardner és Barlett definiálta az elektronikus orrot, mint műszert, amely tartalmaz egy kémiai szenzor sort, ami részben specifikus és egy megfelelő minta felismerő rendszert, amely alkalmas arra, hogy egyszerűbb és összetettebb illatokat ismerjen fel. Elnevezését az emlősök szaglórendszerével analóg volta miatt kapta, amely a következő képpen működik.

Az orr hátsó felső részében, ahová a beszívott levegőnek csak csekély része jut, található a szaglóhám. A szaglóhám kicsi, csak 2,5 négyzetcentiméter területű egy-egy orrüregben. Itt található a szaglósejtek és az olfaktorikus neuronok, melyek kapcsolatba lépnek az illatanyagokkal. Az olfaktorikus neuronokat másképpen elsődleges neuronoknak is nevezzük. Ezek a neuronok komplexek mindegyik egyszerre több illatanyagra is reagál, illetve mindegyik illatanyagra egyszerre több neuron is reagál. Az elsődleges neuronok az elektromos ingerületet továbbítják az agynak, amely a kapott információt feldolgozza (KAFFKA, FARKAS 1999).

Az elektronikus orr, a gáz szenzor segítségével detektál (mint az elsődleges neuronok), ami egy jelet küld a számítógépnek (agynak). A ma használatos műszer elég messzire került az emberi orrtól és Mielle szerint (MIELLE et al. 1995) ez az analitikai módszer nyilvánvalóan elektronikai, de nem orr. Ezért ajánlja sok kutató, hogy másképp nevezzék ezt a műszert, mint például „aroma érzékelő”, „illat műszer”, vagy „több szenzoros érzékelő”(OLAFSDOTTIR et al. 2005).

Az elektronikus orr legfontosabb eleme az érzékelősor azon belül is a szenzorok, amelyekből a következő típusok ismertek:

1. MOS: Félvezető fémoxidok (Metal Oxide semiconductor)
2. MOSFET: Félvezető fémoxid tranzisztorok (Metal Oxide Semiconductor Field Effect Transistors)
3. CP: Szerves polimer vezetők (Conducting organic polymers)
4. Piezo-elektronos kristályok (LIRON et al. 1997)
 - a. BAW (Bulk Acoustic Wave)
 - b. SAW (Surface Acoustic Wave)
5. QCM: Adszorpciós réteggel bevont kvarckristály érzékelők (Quartz Crystal Microbalance)

Az ideális szenzor a következő tulajdonságokkal kell, hogy rendelkezzen:

- megfelelő áramlási sebesség,
- a kémiai illatanyagok iránti magas érzékenység,
- alacsony érzékenység a hőmérséklet és relatív páratartalom változásra,
- magas stabilitás,
- magas reprodukálhatóság és megbízhatóság,
- alacsony reakció és regenerálódási idő,
- könnyű kalibrálás,
- a kimenő adatok könnyű feldolgozása. (KELLER et al. 1998)

Mindezek a tulajdonságok miatt a mai gyakorlatban leginkább a MOS és MOSFET érzékelőket alkalmazzák, így csak ezen szenzorokról fejteném ki az észrevételeimet.

A MOS szenzor hengeres vagy lapos kerámia hordozóra felvitt fémoxid film, amely magas hőmérsékletre felfűtve (200-650°C) vezetőként viselkedik. Két típusát ismerjük az *n*-t és *p*-t. Az *n*-típusú szenzor anyaga legtöbbször cink-oxid, vas (III)-oxid, titán-oxid vagy ón-oxid és jellemzője, hogy az oxidáló hatású vegyületekre érzékeny. A *p*-típusú érzékelő anyaga kobalt-oxid és nikkell-oxid szokott lenni, és a redukáló hatású vegyületekre érzékeny. A MOS szenzor működési elve a félvezető vezetőképességének megváltozásán alapszik, a gázok adszorpciója és a felületi reakció

révén (HAUGEN, KVALL 1998). A polikristályos fénoxid réteg felületén és belsejében a levegő oxigénje adszorbeálódik és attól függően, hogy magas vagy alacsony hőmérséklet az uralkodó változtatja meg a szenzor vezetőképességét.

A MOSFET érzékelők három rétegből állnak egy félvezető szilícium-rétegből egy szilícium-oxid szigetelőből és egy fém katalizátorból, ami általában palládium, irridium, ródium vagy platina. Amikor egy poláris vegyület lép kölcsönhatásba a kapu elketróddal, az elektromos tér és ennek következtében az átfolyó áram is módosul. Működésük az elektrosztatikus potenciál megváltozásán alapul, amit a szenzor válaszként rögzít (SCHALLER et al. 1998).

Az összes szenzor típus kapcsolatba lép a termék feletti térben feldúsult illatanyagokkal, amelynek hatására fizikai és kémiai kapcsolat is létrejön, amikor az illat komponensek átáramlanak a szenzorban. Az egyes szenzorokon kapott jelválasz értéke a referenciagázhoz képest, a szenzorjelek sorrendje, értékeik különbsége együttesen hozzák létre a vizsgált anyagra jellemző jelválaszt, mely így mintegy „ujjlenyomatként” az adott illat azonosítására használható.

Az elektronikus orr élelmiszer-ipari alkalmazásának területei a következőkben foglalhatók össze:

- alapanyagok, félkész-, kész- termékek minősítése,
- a főzési folyamat nyomonkövetése,
- fermentációs folyamatok nyomonkövetése,
- az érés és érlelés megfigyelése borok, sajtok, dohány-, hústermékek esetén,
- a tárolási folyamatok, frissesség megőrzés, öregedés tanulmányozása,
- a keverés, ízesítés, oldás folyamatának felügyelete,
- mikrobiológiai állapot (pl. penésztartalom) megállapítása.

Elektronikus orral kísérletet végeztek pl. füstölt lazac mikrobiológiai és érzékszervi minősítés előrejelzésére (OLAFSDOTTIR et al. 2005), vagy hal romlásának és frissességének detektálásra (CHANTARACHOTTI et al. 2006; BARBRI et al. 2008). Sikeresen próbálták ki az eltarthatósági idő/frissesség vizsgálatához számos különböző módon csomagolt és tárolt vörös hús esetében (FUNAZAKI et al. 1995; WINQUIST et al. 1993; BLIXT 1999). Ezen kívül használhatják még oliva olaj karakterének- és gabona mikrobiológiai minőségének meghatározására is (JONSSON et al. 1997; STELLA et al. 2000). Az elektronikus orrot kipróbálták például körte érettségének előrejelzésére (ZHANG et al. 2008). Ezen kívül alkalmazták még sör (PEARCE et al. 1991), illetve különböző korú és betakarítási idejű oregánó és lestyán illatkomponensek meghatározására és elkülönítésére is (SEREGÉLY, NOVÁK 2005). Nagynyomással és gamma sugárzással kezelt darált marhahúsban bekövetkezett fizikiai-kémiai és minőség változások nyomonkövetésére is folytattak

vizsgálatokat elektronikus orral, amely a változásokat érzékelt és jól el is különítette. (HASSAN et al. 2002)

2.2.3. Közeli infravörös spektroszkópia (NIR)

A kezdetek a XIX. századra tehetőek. Sir Frederic William Herschel, angol csillagász 1800-ban kelt tanulmányában számolt be kísérletéről, mely során azt a színt kereste a látható spektrumban, amely a napfény melegéért felelős. Egy üvegprizma segítségével szétválasztotta a napfény sugarát a szivárvány színeire, majd befeketített tartályú hőmérőkkel megmérte hőmérsékletüket. Az így leolvasott hőmérséklet a kék színtől a zöldön át a vörösre emelkedett, de ami meglepőbb volt, hogy a vörösön túli meg nem világított területen ez a tendencia folytatódott (BURNS 1992; MCCLURE 2004). Tekintve azt, hogy ez a tartomány az emberi szem számára láthatatlan, vörösön túli, azaz infravörös (infrared, IR) néven került feljegyzésre. Mivel a látható tartományban sokkal könnyebb volt dolgozni, ezért az IR technika csak a fényképlemezek feltalálása után került ismét előtérbe: 1881-ben Abney és Festing a 700-1200 nm-ig terjedő közeli IR tartományt vizsgálta fényképezéssel (OSBORNE, FEARN 1986a). A XX. század legelején Coblenz munkását kell kiemelni, aki a maga építette IR spektrométerrel gyűjtött adatok mintázata alapján megállapította, hogy nincs két vegyület, amelynek egyforma lenne az IR spektruma, még ha ugyanazokból az atomokból állnak is (pl. etil-alkohol és dimetil-éter). Szintén hozzá kapcsolódik az a megfigyelés, mely szerint a hasonló kémiai csoportokkal rendelkező vegyületek hasonló IR elnyelési sávokat adnak (pl. hidroxilcsoport elnyelése az alkoholok, fenolok, karbonsavak esetén) (BURNS 1992).

A 1950-es évek közepétől megjelent műszerek az elektromágneses spektrum ibolyántúli (ultraviolet, UV), látható (visible, VIS) és közeli IR tartományait egyszerre vizsgálták. Bár Kubelka és Munk már a 1930-as években felvetette a diffúz reflexión alapuló mérés lehetőségét, de ez a mérési mód gyakorlatilag csak Karl Norris 1960-as évek közepén publikált eredményei után kapott nagyobb figyelmet. Egyébiránt Norrist méltán nevezik a „modern közeli IR atyjának”, hisz főként neki köszönhető, hogy a közeli IR technikát bevezette az analitika világába (NORRIS, BUTLER 1961).

Az 1970-es évek elején már a kereskedelmi forgalomban is kaphatóak voltak szűrős készülékek, elsősorban gabonaiipari célokra (MCCLURE 2004). A kezdeti időkben a technika alkalmazásának elterjedését jelentősen gátolta a számítástechnika kis teljesítménye, ill. hiánya. Az 1980-as évek elején a szűrős készülékek mellett már egyre szélesebb körben jelentek meg a billegő holografikus ráccsal felszerelt mérőműszerek, és erre az évtizedre tehető a kemometria és a számítástechnika nagyobb léptékű fejlődése a közeli IR területén.

A közeli IR hullámhossz tartomány 800-2500 nm között helyezkedik el (MURRAY 2004). Pontos optikai jelet két tartományban kaphatunk: a transzmissziós méréseknél rendszerint a 800 – 1100 nm-közötti tartományban, míg a reflexiós méréseknél általában az 1100–2500 nm-ig terjedő régiót használják fel.

Egyre nagyobb teret hódított a közeli infravörös reflexiós (NIR) és transzmissziós (NIT) eljárás. A felhasználás bővülés okai közé sorolható, hogy a spektrumok információjának megismerésére több új statisztikai, kemometriai eljárást dolgoztak ki, így az információ kinyerésének hatékonysága jelentősen megnőtt.

A NIR/ NIT technika a minta és az infravörös fotonok kölcsönhatását használja fel: a fénykvantum hatására a molekulák rezgési és forgási állapotai gerjesztődnek, eközben a fotonok egy része visszaverődik (reflexió), elnyelődhet (abszorpció) vagy áthaladhat a mintán (transzmisszió) (OSBORNE , FEARN1986b).

A spektrum a szerves molekulák különböző hullámhosszaknál történő fényabszorpciójának eredményeképp jön létre (CIURCZAK 1992).

A közeli infravörös készülékek felépítése és működése

A közeli IR tartományban működő általános, ill. alkalmazás specifikus (dedikált) berendezéseket (WORKMAN, BURNS 1992; STAK, LUCHER 2004) többek között az alábbi szempontok szerint jellemezhetjük:

1. Mérési elrendezés, mintával való érintkezés szerint:

- transzmissziós,
- diffúz reflexiós,
- transzreflexiós

2. Alkalmazott technika, eljárás, módszer szerint:

- szűk sáváteresztésű interferencia szűrő,
- billegő, konkáv, holografikus, diffrakciós rács,
- fénykibocsátó dióda (light emitting diode, LED) szűrővel,
- fotodiódasor,
- interferométer (Michelson-féle vagy kristálpolarizációs),
- akusztó-optikusan hangolható szűrő (acousto-optical tunable filter, AOTF),
- folyadékkristály által hangolható szűrő (liquid crystal tunable filter, LCTF),

- többdimenziós képalkotó eljárások (hyper-spectral imaging).

3. Fényforrás szerint:

- wolfrám-halogén izzó,
- LED,
- hangolható lézer;

4. Detektorok szerint:

- szilícium alapú
- indium-gallium-arzenid (InGaAs)
- ólom-szulfid

Közeli infravörös technika előnyei és hátrányai

A közeli infravörös technika előnyös tulajdonságai miatt az utóbbi évtizedekben széles körben elterjedt analitikai feladatok elvégzésére. Viszonylag egyszerű, gyors mérésekkel lehetőség nyílik mennyiségi és minőségi vizsgálatok elvégzésére

Előnyei:

1. A spektrumok komplex információk hordozói, és így több összetevő egyidejű meghatározására adnak lehetőséget.
2. A minták fő kémiai alkotóelemein túl lehetőség nyílik azok minor komponenseinek (pl. klorofill, pigment), valamint fizikai jellemzők (pl. részecskeméret, keménység) becslésére is.
3. A mérés időigénye jelentősen lecsökken a klasszikus kémiai módszerekhez képest. A minta állapotáról szinte azonnal kaphatunk információt, ennek jelentősége egyes esetekben számottevő.
4. A minta-előkészítés olyan mértékben egyszerűsödik, hogy a mérés a mintavétel helyszínén is elvégezhető.
5. A vizsgálat roncsolásmentes, nagyon kis mértékben avatkozunk be a mintában lejátszódó folyamatokba, így alkalom nyílik arra, hogy fiziológiai folyamatokat kövessünk nyomon, ill. élő rendszereket vizsgáljunk.
6. Vegyszert, reagenst nem igényel, környezetbarát

Hátrányai:

1. A mennyiségi meghatározás minden esetben kalibrációt igényel. A mérés pontossága nagy mértékben a referencia adatok mérési pontosságától függ, ugyanis a közeli infravörös spektroszkópia összehasonlító, vagy másodlagos mérési technika, mely egy laboratóriumi referencia eljárás eredményeire épül és az összefüggést matematikai statisztikai eljárással határozza meg.
2. A sokkomponensű természeti eredetű minták NIR/NIT spektrumai bonyolultak „zsúfoltak”, ezért gyakran előfordul az, hogy az egyik alkotóelem csoportrezgéseinek abszorbancia-maximuma egybeesik a másikkal, és az intenzitások arányától függően többé-kevésbé elfedik egymást.

A NIR módszert számos helyen alkalmazták hal frissességének meghatározására (NILSEN et al. 2002), vagy hal romlásának detektálására (LIN 2006), fagyasztott darált tőkehal minőségnek vizsgálatára (PINK et al. 1999) és tejtermékek fogyaszthatóságának monitorizálására (SINELLI 2006). Pácolt lazac ikra és füstölt lazac sótartalmának és nedvesség tartalmának meghatározásához alkalmazták még ezt a módszert (HUANG et al. 2001; HUANG et al. 2002). A hús minőség vizsgálatával kapcsolatban, először laboratóriumi körülmények között tesztelték eredményesen a NIR módszert (NÁDAI 1983). A NIR módszer darált csirke hús mikrobiológiai romlás detektálására és meghatározására is használható (ELLIS et al. 2002; LIN et al. 2004). Ezzel a módszerrel kísérleteket végeztek még nyers hús és állati eredetű élelmiszerek zsír, fehérje és nedvesség tartalmának meghatározásra is. Az eredmények arra utalnak, hogy NIR technológia alkalmas lehet ezen paraméterek becslésére (KAFFKA, MARTIN 1985; NÁDAI 1986). Az élelmiszeriparban alkalmazható lehetne még a NIR technológia tojás frissességének meghatározására (GIUNCHI et al. 2008), vagy nagynyomással és besugárással kezelt tojás fehérje lében és tojás sárgájában bekövetkezett változások észlelésére is (ANDRÁSSY et al. 2006). Az élelmiszeripar területén kívül még alkalmazták ezt a módszert a dohány kátrány, redukáló cukor és alkaloid meghatározására is. A vizsgálatok azt mutatták, hogy az összes alkaloidák és a redukáló cukor meghatározására alkalmas lehet ez a módszer, mert a mérések jól reprodukálhatóak voltak és magas korrelációt mutadtak (VÁRADI et al. 1992).

2.2.4. *Prediktív mikrobiológia*

A romlást okozó és patogén mikroorganizmusok élelmiszereken való elszaporodásának előrejelzése mind az élelmiszert előállítóknak, forgalmazóknak, mind pedig a fogyasztóknak érdekében áll.

Azoknál az élelmiszereknél, amelyeknek pH-ja és vízaktivitása megfelelő különböző mikroorganizmusok számára, az eltarthatóságot elsősorban a mikrobás romlás korlátozza. Az élelmiszert fogyasztók egészségét veszélyeztető fő forrás pedig az esetenként az élelmiszerral közvetíthető kórokozók jelenléte, vagy azok továbbszaporodásának lehetősége.

A klasszikus fizikai, kémiai és fiziko- kémiai változásokon alapuló módszerek, sokszor csak akkor szolgálnak értékelhető adatokkal, amikor a mikroorganizmusok száma a megengedett határérték közelében van. A hagyományos mikrobiológiai módszerek időigényesek, érzékenységük miatt számos esetben nem képesek megfelelő előrejelzést adni a fogyasztásra szánt élelmiszerek minőségére és biztonságára vonatkozóan. A gyors módszerek sem képesek minden esetben megbízható és pontos eredményt adni. Ezért áthidaló megoldásra alkalmazzák a prediktív mikrobiológiát.

A prediktív mikrobiológia olyan matematikai modellek kifejlesztésével, illetve már meglévő modellek alkalmazásával foglalkozik, amelyek képesek adott környezeti körülmények között a mikroba-szaporodás, illetve-pusztulás dinamikáját előre jelezni. A modelleket úgy alkotják, hogy bizonyos környezeti tényezőket, mint például a hőmérséklet, pH, vízaktivitás, gáztér összetétel vesznek figyelembe, hogy hogyan hatnak a mikroba-szaporodásra illetve pusztulásra. Ezek után olyan környezeti körülmények között is alkalmazzák a szaporodási- illetve pusztulási előrejelzést, amelyeket, a modell megalkotása során nem vizsgáltak (MCMEEKIN et al. 1993). Az élelmiszerek komplex rendszere miatt, a modellezési feladat sok esetben sokkal bonyolultabb feladat, mint első pillanatban gondolnánk.

A dinamikus matematikai modellek előnyeit és hátrányait McMeekin és társai (1993), valamint Baranyi és Roberts (1994, 1995) taglalták. A Baranyi és Roberts által 1995-ben kidolgozott új modell lehetővé teszi a baktérium-szaporodás előrejelzést változó hőmérsékleten abban az esetben is, ha a tenyészet a lag- szakaszban van. Gyakorlati szempontból különösen a lag-fázis és az exponenciális fázis ismeretének van nagy jelentősége, mert ha sikerül a mikrobákat a lag-fázisban tartani, azzal az élelmiszerek eltarthatósági ideje növelhető meg. Ha viszont már az exponenciális

szakaszba lép a mikroba, akkor a tárolási hőmérsékleten elért szaporodási sebesség fogja meghatározni az élelmiszer eltarthatóságát.

Ezeknek a modelleknek három egymásra épülő típusa van (FARKAS, 2004):

- Az elsődleges modellek matematikai egyenlettel írják le például a mikrobák számának, mint függő változónak, rögzített mikrobiológiai ökológiai tényezők mellett bekövetkező időbeli változását. Az empirikus úton kapott adatokhoz illesztnek a baktérium szaporodását leíró görbét.
- A másodlagos modellek annak a matematikai megfogalmazásai, hogy az elsődleges modell szerinti függő változó alakulására miként hat a mikrobiológiai ökológiai környezeti tényezők változása.
- A harmadlagos modellek számítógépes szoftver-csomagok, melyeknek két fő része van. Az első előrejelzéshez használható matematikai modell alkalmazását teszi lehetővé, a második az adatbázisokhoz nyújt hozzáférést, amiket előrejelzések validálásához és matematikai modellek paramétereinek meghatározásához használnak.

Az élelmiszer, mint rendszer mikrobiológiai szempontból nagyon bonyolult, ezért a modellezés számos leegyszerűsítésen és feltételezésen kell, hogy alapuljon. A jelenleg rendelkezésre álló modellek sokszor már megfelelő előrejelzést képesek adni a mikrobák szaporodási sebességéről a környezeti tényezők függvényében. Szerényebb eredményeket értek el a mikrobaszaporodás úgynevezett lappangó szakaszára vonatkozó biztonságos előrejelzésében, mert az aktuálisan jelenlévő mikrobák viselkedése jelentősen függ az előzetesen őket ért hatásoktól. Abban az esetben sem tökéletes még az előrejelzés, ha a mikrobák olyan környezetben vannak, ahol más mikroorganizmusokkal kényszerülnek versenyhelyzetbe.

2.2.4.1. A prediktív modellek alkalmazási területei

Az élelmiszeriparban az alábbi feladatok megoldásához lehetne a prediktív modellezést használni:

1. új termék fejlesztése,
2. folyamatszabályozás mikrobiológiai előírások megállapítása,
3. HACCP rendszerek kidolgozása,
4. mikrobiológiai kockázatbecslés.

Az előbb felsorolt területek a következőben részletesebben fejtem ki.

1. Új termék fejlesztése:

- értékelni lehet a várható tárolási körülmények hatását,
- gyors előzetes becslést lehet végezni a termék mikrobiológiai stabilitásáról,
- értékelni lehet az előírásoktól eltérések élelmiszerbiztonsági hatásait.

2. Folyamatszabályozás mikrobiológiai előírások megállapítása:

- becsülhető például mikroorganizmusok várható szintje a minőség-megőrzési idő végén,
- értékelni lehet az előírt értékektől való eltérések hatásának következményeit, így
 - nem kellően alacsony tárolási hőmérséklet
 - magasabb pH
 - nem egyenletes só eloszlás stb.

3. A HACCP rendszerek tervezésénél például az alábbi feladatokra lehet használni a modellezést:

- kritikus szabályozási pontok meghatározása,
- kritikus határértékek meghatározása,
- az előírt folyamatszabályozási határértékektől való eltérések következményeinek meghatározása.

4. Mikrobiológiai kockázatbecslést használnak:

- rövid eltarthatóságú, gyorsan romló élelmiszereknél,
- annak érdekében, hogy egy adott élelmiszerben mely kockázati tényezőknek lehet jelentős hatása a fogyasztók egy meghatározott kórokozónak való kitettségére.

A prediktív modellek használatának egyik előnye, hogy az egyes modellek érvényességi határain belül a mikrobák kiindulási csíraszámának, illetve a szaporodást és a pusztulást befolyásoló tényezők változtatásának hatásait gyorsan és nagyon egyszerűen lehet becsülni, így rövid idő alatt több termékösszetételt és környezeti hatást is össze lehet hasonlítani. Ezáltal energiát és pénzt lehet megtakarítani (BECZNER et al. 2004).

A prediktív modellek alkalmazásának korlátai:

A prediktív mikrobiológiai modellek megbízhatóságát több tényező korlátozza:

- a modellek szerkesztésénél az egyenletek illesztésének pontossága a kísérleti adatokra,
- mikrobiológiai érvényesség,
- párhuzamos mikrobiológiai vizsgálatok eredményei között nagy eltérés lehet, ami növeli a bizonytalanságot,
- az inhomogén élelmiszerekben a különböző összetevők eltérő fizikai, kémiai mikrobiológiai tulajdonságai miatt számos eltérő mikrokörnyezet alakulhat ki,
- a laboratóriumi tenyészetekből végzett vizsgálatok alapján állították fel, a „természetes” tenyészetek életerősebbek lehetnek,
- a környezeti stresszhatások is ronthatják az eredmények megbízhatóságát.

A modellezés megbízhatósága javítható, ha adott feladatra többféle rendelkezésre álló modellel is elvégezzük a számításokat.

2.2.4.2. ComBase program

A brit Food MicroModel adatgyűjteményre és az amerikai Pathogen Modelling Program-ra támaszkodva, a közelmúltban létrehoztak egy új adatbázist, ami a brit Élelmiszer Szabványosítási Hivatal (UK Food Standards Agency) által támogatott norwich-i Élelmiszer Kutató Intézet (Institute of Food Research) és az Egyesült Államok Mezőgazdasági Minisztériuma wyndmoor-i Keleti Regionális Kutató Központ (Eastern Regional Research Center) nevű intézményének közös vállalkozása. Ezt a standardizált adatbázist Általános Előrejelző Mikrobiológiai Adatbázisnak más néven ComBase-nek nevezték el (ANON 2003; BARANYI et al. 2003).

A ComBase program helyesen inkább egy program csomag, amely számos más programot is tartalmaz. Így például aki saját adatokból akar modellt készíteni, az a ComBase DMFit- DmPred szoftvert, illetve a Microfit szoftvert használhatja. Kockázatbecslésre a ComBase Browser, a Growth Predictor és a Pathogen Modelling Program szoftver használható. A ComBase Browser a ComBase adatbázisban való keresésre szolgál. A Growth Predictor főként a mikrobaszaporodás hőmérséklet-, pH- és vízaktivitás- függésén alapuló modellek alkotják (www.combase.cc).

A gyakorlati igényekre tekintettel fontos elmondani, hogy a szoftvercsomag alapmodelljei legtöbbször a legrosszabb szituációt jelzik, azaz a prediktív modellel jelezett szaporodási

sebességeknél a gyakorlatban tapasztalható értékek valamivel kisebbek lehetnek. Ugyanis az első prediktív modellek nagy részét a baktériumszaporodás szempontjából optimális laboratóriumi tápközegekkel és optimális tenyésztési körülmények között, tiszta tenyészetekkel, nagy kezdeti csíraszámokkal és versengő mikroflórától mentes esetekre dolgozták ki. Lényeges még az is, hogy a modellezéskor érvényesült környezeti tényező értéktartományokon kívüli körülményekre az előrejelző modelleket nem szabad alkalmazni.

3. CÉLKITŰZÉS

Célom volt, hogy több, gyorsmódszer kialakításának lehetőségét vizsgáljam meg, annak érdekében, hogy az élelmiszer-feldolgozó-és forgalmazó cégek megnövekedett nagyszámú minta vizsgálata egyszerűsödjön, és a munkaidő csökkenjen.

Ennek érdekében feladataim között szerepelt az automatikus impedimetriás műszer (Malthus) használhatóságának vizsgálata a friss és hűtve tárolt szeletelt sertéshús baktériumos élőcsíraszámának gyors meghatározására.

Ezek után kísérleteket végeztem szeletelt és darálthús esetében annak érdekében, hogy megállapítsam, érzékelhető- és követhető-e a hús bakteriológiai minősége, és annak időbeli változása elektronikus orrnak nevezett szenzor sor segítségével és a közeli infravörös spektroszkópiával.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. Anyag

Vizsgáltamhoz kicsontozott és zsírszövetből letisztított szeletelt sertéskarajt használtam. A hús felületéről 5 cm² nagyságú szeleteket vágtam ki, amelyeket az elektronikus orr küvetékbe helyeztem be. A mikrobiológiai és NIR mérésekhez a sertéskarajt 5,9 cm átmérőjű steril műanyag petricsészébe helyeztem, majd a húst aerob körülmények között tároltam. A tárolási hőmérséklet 4°C, 8 °C és 12°C volt.

Méréseket folytattam ezen kívül még sertés lapockával. A lapockáról a zsírszöveteket letisztítottam, 4 mm-es lyukátmérőjű húsdarálón daráltam meg, majd 5,9 cm átmérőjű petricsészékbe színültig töltöttem, és a megtöltött petricsészéket fedelével lefedve +4°C-os hűtőtérben tároltam.

4.2. Mérési módszerek

4.2.1. Mikrobiológiai mérések

Alap szuszpenzió készítése:

Stomacher zacskóba fél petricsészényi mintát tettem, megmértem és annyi hígítási folyadékot adtam hozzá, hogy a hígítás tízszeres legyen. Ezt az alap szuszpenziót 0 hígításnak tekintettem. Ebből decimális hígítási sort készítettem és ezekből oltottam a megfelelő táptalajokra.

Aerob összes élőcsíraszám:

Steril petricsészébe a decimális hígítási sor vizsgálni kívánt hígításaiból 1-1 ml-t pipettáztam. A leoltást három egymást követő hígításból végeztem. A szuszpenziót tartalmazó petricsészébe 12-15 ml 45°C-ra lehűtött TGE (Trypton-Glükóz Élesztőkivonat, Merck 1.05463) és később PCA (Plate-Count Agar Trypton-Glükóz Élesztőkivonat, Merck 1.05463) táptalajt öntöttem. A petricsészéket 30°C-os termosztátba helyeztem. A telepszámlálást 48 óra múlva végeztem.

Brochotrix thermosphacta:

Az alap szuszpenzióból 0,1 ml-t STAA (Streptomycin szulfát /tallium acetát/ aktidion, Oxoid 0881 és Oxoid SR 0151E) agar felületére szélesztettem. A táptalajokat 20-22°C-on tároltam, majd 48 óra inkubáció után értékeltem a lemezeket.

Lactobacillus spp.:

Steril petricsészébe a decimális hígítási sor vizsgálni kívánt hígításaiból 1-1 ml-t pipettáztam. A leoltást három egymást követő hígításból végeztem. A szuszpenziót tartalmazó petricsészébe kb. 10 ml 45°C-ra lehűtött M.R.S. (Man-Rogosa-Sharpe, Merck 1.10661) táptalajjal vékony lemezt öntöttem, majd dermedése után 15-20 ml táptalajjal fedőlemezt öntöttem, mikroaerofil körülményeket teremtve. A petricsészéket 30°C-os termosztátba helyeztem. Az inkubálás 48 és 72 óráig tartott.

Pseudomonas spp.:

A *Pseudomonas* élőcsíraszám meghatározásnál az első időben Cetrimid táptalajt (Merck 1.05284) alkalmaztam, melyről később kiderült, hogy egyes *Pseudomonas* törzsek növekedését gátolja, így áttértem a GSP *Pseudomonas*-*Aeromonas* szelektív táptalajra (Merck 1.10230). A *pseudomonaszok* megfigyelése érdekében GSP agar felületére 0,1 ml szuszpenziót szélesztettem. A petricsészéket 30°C-os termosztátba helyeztem. A 72 óra inkubációs idő után értékeltem a lemezeket.

4.2.2. pH mérés

A húsminta pH-ját Consort C 831 pH mérő berendezéssel (kombinált üvegelektóddal) mértem meg. A műszert minden mérés előtt a puffer oldatokkal kalibráltam (pH 4 illetve pH 7). Ezt követően 3 egymástól távol lévő mérési pontot választottam ki mérésre.

4.2.3. Automatikus impedimetriás mérés

A Malthus rendszer segítségével közvetlen impedancia mérések is lehetségesek. A Malthus készülék a **2. ábrán** látható.

Az aerob összes élőcsíraszám meghatározáshoz 2,7 ml Whitley tápoldathoz Don Whitley Scientific Ltd. (ShIPLEY, West Yorkshire, U.K.) 0,3 ml alapsuszpenziót adtam. A *Pseudomonas*-szám meghatározáshoz 2,7 ml *Pseudomonas* táptalajt (BiMedia 130A, Sy-Lab Geräte GmbH, Neupurkersdorf, Austria) C-F-C adalékkal (Oxoid SR 0103E) egészítettem ki a felhasználás előtt, majd 0,3 ml alapsuszpenziót mértem hozzá.

A mintákat minden esetben a Malthus készülékben 30°C-on 26-28 órát inkubáltam, és ezek után történt az eredmények értékelése kalibrációs regressziós egyenesek segítségével.



2. ábra. Malthus készülék

4.2.4. Elektronikus orr mérés

Méréseimhez az Applied Sensor Technology NST 3320 készülékét használtam (**3. ábra**). A készülékben 23 szenzor található, melyből 10 db MOS és 12 db MOSFET és 1db páratartalom érzékelő van.

Az elektronikus orr mintatartó steril fiolába kb. 5 cm² felületű hús szeleteket helyeztem el. A tárolás közben bekövetkezett illatanyag változás nyomon követésére mérésenként 5 fiolát használtam fel.

A 12 férőhelyes karusszelben a mintákat 8-65°C között termosztálva lehet vizsgálni. Lehetőség van továbbá különböző hőmérsékletlépcsők beiktatására. Eltérő lehet az előzetesen beállított mérési program megkezdéséig tartó hőmérséklet (Standby), a mérési ciklus megkezdésétől az adott minta sorrakerüléséig tartó hőmérséklet (Idle) és a mérést megelőző inkubáció (Incubation) hőmérséklete. Az Idle és az Incubation szakaszok hossza tetszőlegesen változtatható. Az előzetesen programozott mérési beállítások alapján az adott üvegeséből egymás után vett minták, valamint a teljes (12 minta) ismétlésének a száma tetszőleges számban megadható. A referenciagáz a szilikagélen és aktív szénen átszívott szobalevegő.

Az elektronikus orr mérések során alkalmazott beállítások a következők voltak:

Inkubációs idő 20°C-on 15 percig tartott, majd az alapvonal felvétel következett, mely 15 másodperc hosszú volt. Ez nem volt más, mint a referencia levegő megadott ideig történő áramoltatása. Mindezek után a 30 másodperces mintavétel következett, mely a hús felett elhelyezkedő légtérből történt. Minden mérés után egy 120 másodperces regenerálódási szakasz volt beiktatva, melyben már a 60 másodperces alapvonal felvétel is végbement. Az érzékelők karakterisztikájának időbeli változását kalibrációval küszöböltem ki, vagyis minden 3. mérés után a készülék hűtött, ultratiszta vízen átbuborékolatott levegőt áramoltatott a szenzorsorra, és megmérte az egyes érzékelők jelválasztát. A mérés során alkalmazott beállításokat a **2. táblázat** foglalja összes.

2. táblázat. Elektronikus orr mérések során alkalmazott beállítások

Szakaszok	Hőmérséklet (°C)	Idő (mp)	Minta (mp)	Kalibráció (mp)
Idle	20		Alapvonal felvétele	15
Standby	20	900	Mintavételi idő	30
Incubate	20	300	Jelválasz visszaállási idő	120
			Öblítési idő	60



3. ábra. NST 3320 típusú elektronikus orr

4.2.5. Közeli infravörös spektroszkópiás mérés

A hús minták spektrumait két típusú közeli infravörös spektrométer készülékkel mértem meg. Az első mérések esetében 3 később 5 független betöltéssel és 60°-os elforgatással rögzítettem a 700-1700 nm (transzfelxiós) és 1000-2500 nm (reflexiós) hullámhossz tartományban a húsok spektrumait.

4.2.5.1. Transzfelxiós NIR

Méréseimhez a METRINIR 10-17 ST alkalmaztam, melyet a **4. ábra** mutat be. A transzfelxiós mérési elrendezésnél a fény áthatol a mintán, majd a reflektoron visszaverődik, újra áthatol a mintán, majd a detektorokra jut, ezzel is csökkentve a minta heterogenitásából eredő mérési hibákat. A mérések előtt optimálni kell a minta rétegvastagságát. Ahhoz, hogy az elektromágneses hullám áthatoljon a mintán, a méréseket a nagyobb frekvenciájú tartományban kell végezni, ugyanis a kisebb energiájú elektromágneses sugárzás nem képes áthatolni azon a rétegvastagságon, amekkora ahhoz szükséges, hogy megfelelő minőségű spektrumot kapjunk. A mérések minden esetben egy 5,9cm átmérőjű műanyag petricsészében történtek.



4. ábra. METRINIR 10-17 ST

4.2.5.2. Reflexiós NIR

Méréseimhez a PMS-Spectralyzer 1025 típusú készüléket alkalmaztam, amelyet az **5. ábra** mutat be. A beeső fénysugár a minta felszínét merőlegesen éri. A fény behatol mintába, és minden irányba visszaverődik. A mintára 90°-ban beeső fénysugárral a 45°-ot bezáró irány mentén elhelyezett detektor méri a diffúzan visszavert fényt. A reflexiós mérés során a fénysugár a minta 1-4 mm mélységéig hatol be, így a detektorra jutó elektromágneses sugárzás információtartalma is erre a tartományra vonatkozik.



5. ábra. PMS-Spectralyzer 1025 típusú készülék

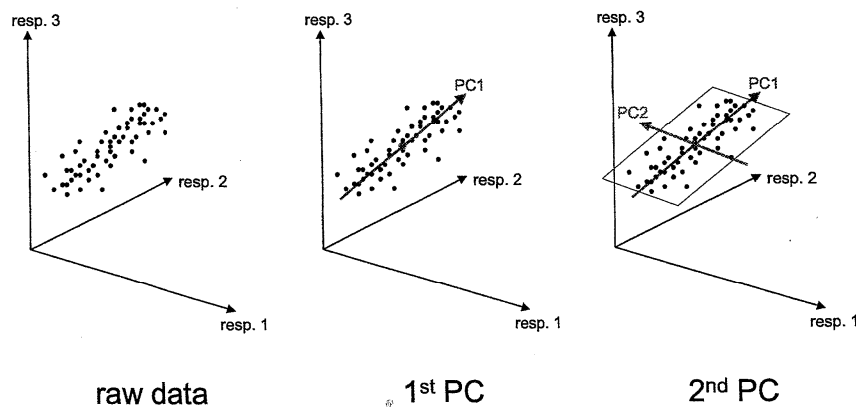
4.3. Az alkalmazott statisztikai módszerek

4.3.1. Főkomponens analízis (Principal Component Analysis, PCA)

A főkomponens analízis ordinációs módszerek közé tartozik, sokváltozós adathalmazok ábrázolására alkalmas, azok lehető leginformatívabb síkbeli leképezése révén. A megfigyelési változók n dimenziós teréből a főkomponens $k \ll n$ dimenziós terébe történő áttérés valósítható meg, aminek az a jelentősége, hogy a megfigyelési egységek itt az eredeti n számú koordináta helyett általában jóval kevesebb k számú koordinátával jelentős információvesztés nélkül leírhatók, sőt szerencsés esetben két dimenzióra redukálódva síkban is ábrázolhatók. Ez pedig lehetővé teszi a megfigyelések esetleges elkülönülő csoportjainak felismerését. (DALMADI et al. 2007).

A főkomponens analízissel a sok változó hatékonyan kezelhető egyszerre. A módszer úgy dolgozik, hogy a változók által kijelölt sokdimenziós térben olyan irányokat keres, amelyek irányában a

mérési eredmények variáciája a legnagyobb. Ezeket az irányokat nevezzük főkomponensnek (PC). Az egyes főkomponenseket azok fontosságának sorrendjében állapítjuk meg. Az első PC magyarázza meg a variancia legnagyobb részét. A második PC ortogonális az elsőre, vagyis független attól. Grafikusan ez annyit tesz, hogy a főkomponensek merőlegesek egymásra. A második főkomponens a megmaradt variáciából annyit magyaráz, amennyi csak lehetséges. Ez így folytatódik mindaddig, amíg az összes variancia el nem fogy. A módszer elve 3 változó esetén a **6. ábrán** figyelhető meg. Fontos megjegyezni, hogy a PCA egy „unsupervised” módszer, azaz a különböző csoportokról szerzett információkat a program egy adatmátrixként kezeli, csak a főkomponensek ábrázolásánál különbözteti meg az eredeti csoportokat különböző jelölésekkel.

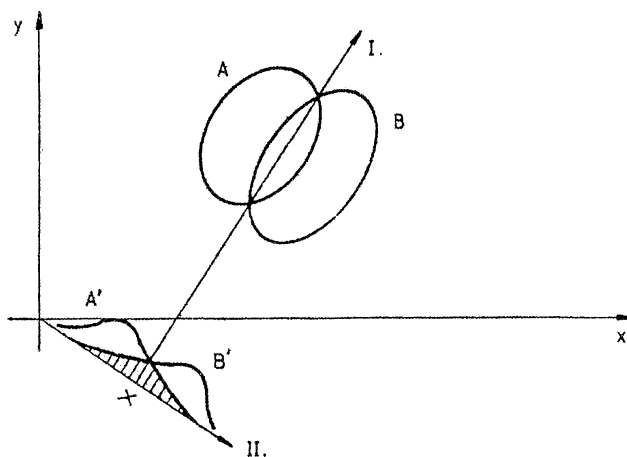


6. ábra. Főkomponens analízis grafikus értelmezése (SMITH 2002)

4.3.2. Diszkriminancia analízis (Canonical Discriminant Analysis, CDA)

A diszkriminancia analízis két, vagy több csoport szétválasztására alkalmas módszer több kvantitatív változó együttes figyelembevételére alapszik. A többszörös regresszióanalízishez nagyon hasonló, azonban a függő változó (y) nem kvantitatív, hanem kvalitatív tulajdonság, mégpedig annak két, vagy több változata. Ezeket a változatokat tekintjük csoportoknak. A CDA végrehajtásakor előre definiált csoportok vizsgálata történik („supervised” módszer). A csoportok megadása lehet szakmai ismereteken, vagy tetszőleges kritériumokon alapuló, de többváltozós módszerek (faktoranalízis, klaszteranalízis) outputjai is képezhetik a kiinduló csoportosítást. Az eljárás kiválasztja a vizsgálatba vont változók közül azokat, amelyek értéke (tulajdonképpen lineáris kombinációja) leginkább jelentős a csoportok szétválasztása szempontjából (OZAKI et al. 2006). Az alap gondolat szemléltetésére vegyünk egy egyszerű esetet két változóval és két csoporttal, amelyek között átfedés van. A gyakorlati alkalmazások során sem tökéletesen szétválasztható

elemek között kell szeparáló függvényt meghatározni, hanem a legjobb elkülönítést biztosító függvényt kell megkeresni. A CDA a következőképpen jár el: a két halmaz szórás elipsziseinek metszéspontjain át egyenest (I.) fektet, majd erre az origón átmenő merőleges egyenest (II.) illeszt. Ha a két dimenzióban ábrázolt pontokat a II. egyenesre vetítjük, akkor a két csoport egyváltozós (normális) eloszlása közötti átfedés kisebb lesz, mint bármilyen más egyenes esetén. (7. ábra)



7. ábra. A diszkriminancia analízis alap gondolatának szemléltetése (MARTENS, NAES 1991)

A két egyenes metszéspontja – az X pont – segítségével osztható a minta két csoportba. A vonalkázott részbe eső pontok osztályozása eltérhet az eredeti besorolástól, mert jobban hasonlítanak a másik osztályba tartozó elemekhez. Így az eredetivel azonosan osztályozott pontok arányának megadásával minősíthetjük a szétválasztás jóságát.

4.3.4. Részleges Legkisebb Négyzetek módszere (PLS)

Az (előkezelt) spektrumok és a referencia adatok birtokában különböző matematikai – statisztikai eszközökkel megvizsgálhatjuk az összefüggést két adathalmaz között. A PLS egy regressziós módszer, mely megengedi számos hullámhossz használatát, mialatt elkerüli a kollinearitás problémáját. A hagyományos legkisebb négyzetek módszerétől eltérően a PLS nem azt tételezi fel, hogy a spektrum adatok pontosak, és az összes hiba a referencia értékben van. A spektrum és a referencia adatokat egyidejűleg modellezi. Mindegyik lépésben az adatkészletből kivonja a spektrum és a referencia adatok egy részét, maradékot képezve. A modell a látens változók (vagy faktorok) számának növelésével egyre pontosabban írja le a spektrumadatok és a referenciaadatok közötti összefüggést. A PLS ezekre a faktorokra részleges kalibrációkat alkalmaz a variancia

összegének modellezésére, amelyeket a művelet végén egy átfogó kalibrációs egyenletben gyűjt össze (HELLAND 1990).

Az optimális faktorszám meghatározása a PLS kalibráció fontos része: túl kevés faktor esetén a kalibráció kevés információt hordoz és nagy predikciós hibával dolgozik, míg túl sok faktor alkalmazásakor a modell túlilleszti a kalibrációs adatokat, és az így elveszti a stabilitását. Az optimális faktor számot rendszerint keresztvalidálással, vagy a kalibráló mintapopulációtól független, predikciós mintasereg segítségével határozzuk meg. A keresztvalidálás során a kalibráló mintapopulációt alcsoportokba osztjuk. Ezen alcsoportok közül egyet visszatartunk, míg a maradék mintákkal megtörténik a kalibráció. Az így nyert kalibrációs egyenlettel úgy analizálhatjuk a visszatartott alcsoportot, mintha független, ismeretlen minták lennének benne. A statisztikai értékelés után a visszatartott alcsoport visszakerül a kalibráló mintaseregbe. Ezt követően az előbbieken ismertetett műveletsor a többi alcsoporttal megismétlődik, majd az alcsoportokra kapott részeredmények összegződnek (FOSS NIRSYSTEM 2000).

5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉS

5.1. Szeletelt sertéskaraj baktériumos romlásának nyomonkövetése

5.1.1. Mikrobiológiai vizsgálatok

A sertéskarajt aerob módon tároltam három különböző hőmérsékleten (4,8,12°C).

Mind a három tárolási hőmérséklet esetén aerob összes élőcsíraszámot és *Pseudomonas* számot határoztam meg. Az „Anyag és módszer” részben (4.1 és 4.2.1. fejezet) már kifejtett módszereket és táptalajokat alkalmaztam méréseim során. A mikrobiológiai mérések mellett érzékszervi megfigyeléseket is végeztem. A három hőmérsékletre tartozó aerob összes élőcsíraszámot, *Pseudomonas* számot és érzékszervi megfigyeléseket a **3. táblázat** foglalja összesen. A **3. táblázatban** a 3 párhuzamos mikrobiológiai vizsgálat átlagértékei, zárójelben pedig a standard hiba (szórás) látható.

Megfigyelhető, hogy a hőmérséklet emelkedésével a tárolási napok száma radikálisan csökkent, míg a 4°C-on, a tárolási idő 11 nap volt, 8°C-on 6 nap és végül a 12°C-on már csak 3 nap. Vizsgálatokat a 4°C-os tárolás alatt a 0., 1., 3., 6., 8., 10. napokon végeztem. A tárolási hőmérséklet emelkedésével a mintavételek gyakorisága is nőtt. A 8°C-os hőmérséklet esetén 0., 1., 2., 3., 6. napokon történtek a mérések. Az 1., 2. és 3. napon délelőtt és délután is vizsgáltam a mintákat és ugyanígy tettem a 12°C-os tárolás esetében is.

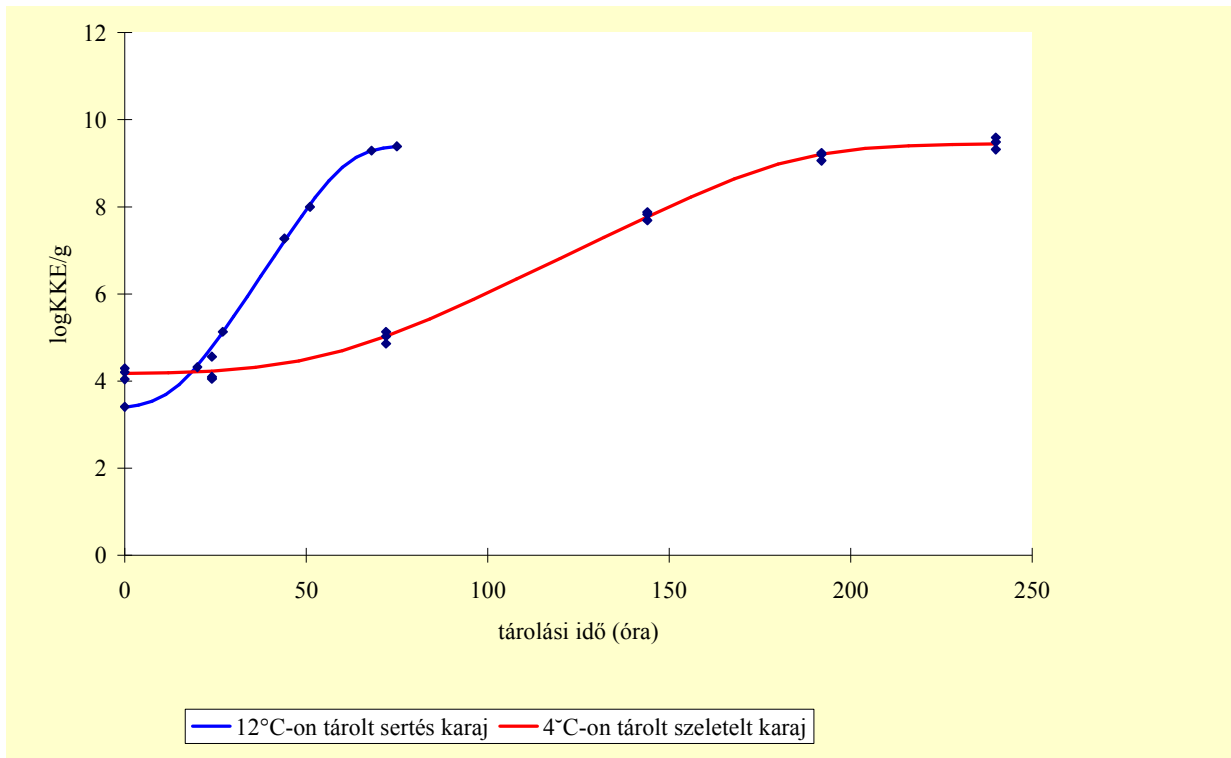
Így a mikrobiológiai romlás határértéket (10^7 KKE/g) 4°C-on a 6. napon, 8°C-on kb. 2,5. napon, 12°C-on már 1,5. napon eléri az aerob összes élőcsíraszám.

3. táblázat. Szeletelt sertéskaraj mikrobiológiai eredményeinek és érzékszervi megfigyelésének összesítése a tárolási hőmérséklet- és idő függvényében

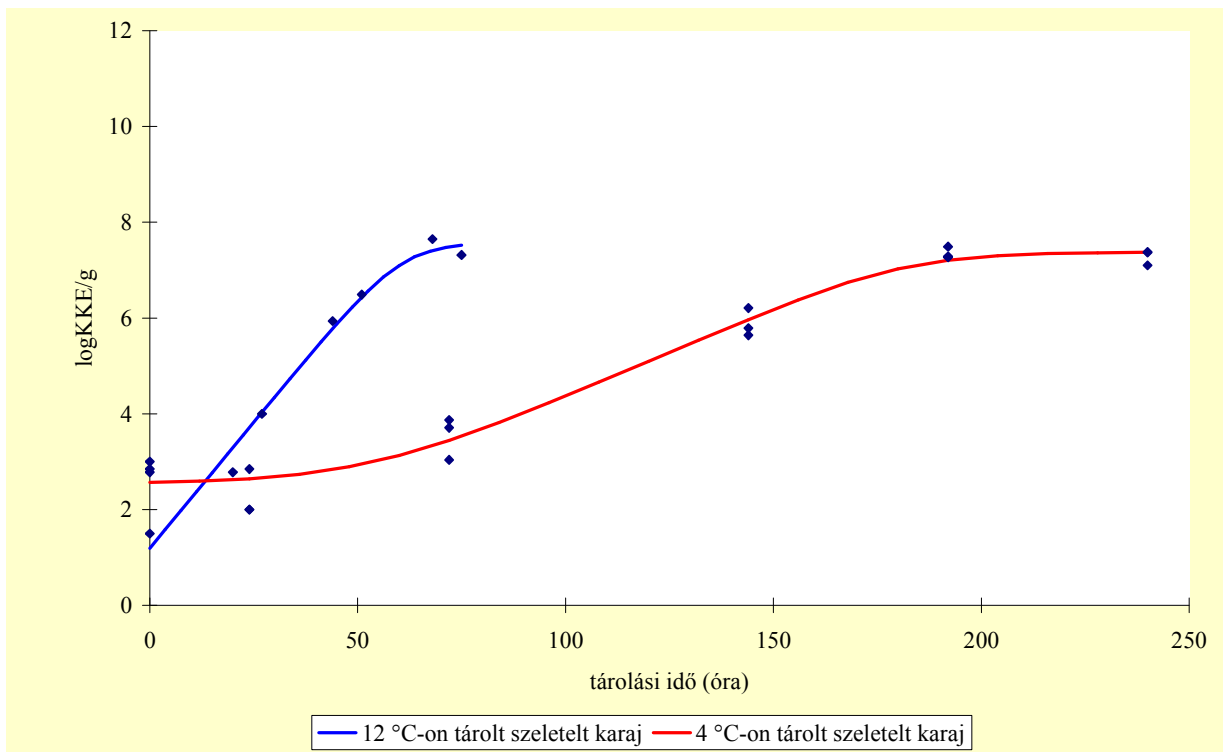
Tárolási hőmérséklet	Idő	TAPC	<i>Pseudomonas</i>	Érzékszervi megfigyelés
(°C)	(nap)	(logKKE/g)	(logKKE/g)	
4	0	4.2 (0.13)	2.9 (0.11)	Friss hús illat
	1	4.2 (0.10)	2.3 (0.49)	Friss hús illat, kevés folyadékfilm
	3	4.8 (0.45)	3.5 (0.44)	Hús illat, folyadékfilm
	6	6.7 (0.31)	5.9 (0.30)	Hús illat, kissé véres folyadékfilm
	8	8.1 (0.09)	7.4 (0.12)	Szürkés színű hús, nem friss illat, zavaros folyadékfilm,
	10	8.2 (0.29)	7.3 (0.13)	Nyálkás, bűzös hús és zavaros folyadékfilm
8	0	4.9 (0.01)	3.2 (0.04)	Friss hús illat
	1	5.2 (0.26)	3.7 (0.03)	Hús illat, kissé véres folyadékfilm
	2	5.6 (0.19)	4 (0.01)	Kissé véres folyadékfilm, eltűnt a friss illat
	3	8 (0.28)	6.4 (0.23)	Szürkés színű hús, nem friss illat, kissé zavaros folyadékfilm
	6	9.6 (0.11)	8.1 (0.06)	Bűdös és nagyon zavaros folyadékfilm
12	0	3.4 (0.06)	<2.0 (0.00)	Hús illat, kissé fakó hússzín, kevés folyadékfilm
	1	5.1 (0.53)	4 (0.40)	Fakó hús, hús illat, zavaros folyadékfilm
	2	8 (0.45)	6.5 (0.29)	Szürkés hús, zavaros folyadékfilm, baktérium növekedés a felületen
	3	9.4 (0.01)	7.8 (0.02)	Szürke, nyálkás, bűzös hús és folyadékfilm

A tárolási napok és a hőmérsékletemelkedés összefüggés a szaporodási sebességgel is szoros kapcsolatban áll. A szaporodási görbék illesztésére az irodalmi áttekintésnél a prediktív mikrobiológiai részben már említett ComBase szoftvert alkalmaztam (2.2.5.2. fejezet). Ezen a szoftver csomagon belül is a DmFit programot használtam, amely a baktérium szaporodás Baranyai féle modelljén alapuló görbe illesztési technikát alkalmazza (www.combase.cc).

Illusztrációként két jellegzetes grafikont választottam ki. A **8. ábra** egy 4 illetve 12°C-on tárolt szeletelt sertéskaraj aerob összes élőcsíraszám szaporodási görbéit hivatott bemutatni, a **9. ábra** pedig *Pseudomonas* szám szaporodási görbéket ábrázolja.



8. ábra. 4 és 12°C-on tárolt szeletelt sertéskaraj aerob összes élőcsíraszámának változásai



9. ábra. 4 illetve 12°C-on tárolt szeletelt sertéskaraj *Pseudomonas* spp.szaporodási görbéi

A csíraszám és detekciós idő függvényében kapott szaporodási görbén kívül megkapjuk még a kezdeti ($\log y_0$) és végső élőcsíraszámot ($\log y_{end}$), a lag fázis hosszát (lag), a szaporodási sebességet (rate) és a determinációs értéket (r^2) is. A **4. táblázat** tartalmazza a DmFit program által meghatározott összesített aerob összes élőcsíraszám adatokat, az **5. táblázat** meg a *Pseudomonas* adatokat 4°C, 8°C és 12°C-ra egyaránt.

A **4. és 5. táblázatból** látható, hogy a kezdeti aerob összes élőcsíraszám magasabb volt, mint a *Pseudomonas* szám, de ahogy a szakirodalom alapján ez várható volt, a tárolás végére a *Pseudomonas* spp. vált uralkodóvá. A kísérletsorozatokban a tárolási hőmérséklet emelkedésével csökkent a lag fázis hossza. Míg az aerob összes élőcsíraszámánál 55,2 órától 13,7 órára, addig a *Pseudomonas*-nál radikálisabb volt a változás, 44,6 órától 0 órára csökkent. A lag fázis hosszának csökkenésével egyidejűleg a szaporodási sebesség a hőmérséklet emelkedésével növekedett. Ez is magyarázza, hogy a tárolási hőmérséklet emelkedésével a tárolási idő csökkent.

4. táblázat. Szeletelt sertéskaraj 4,8,12°C-os tárolása során kapott szaporodási görbe-illesztések jellemzői, aerob összes élőcsíraszámra

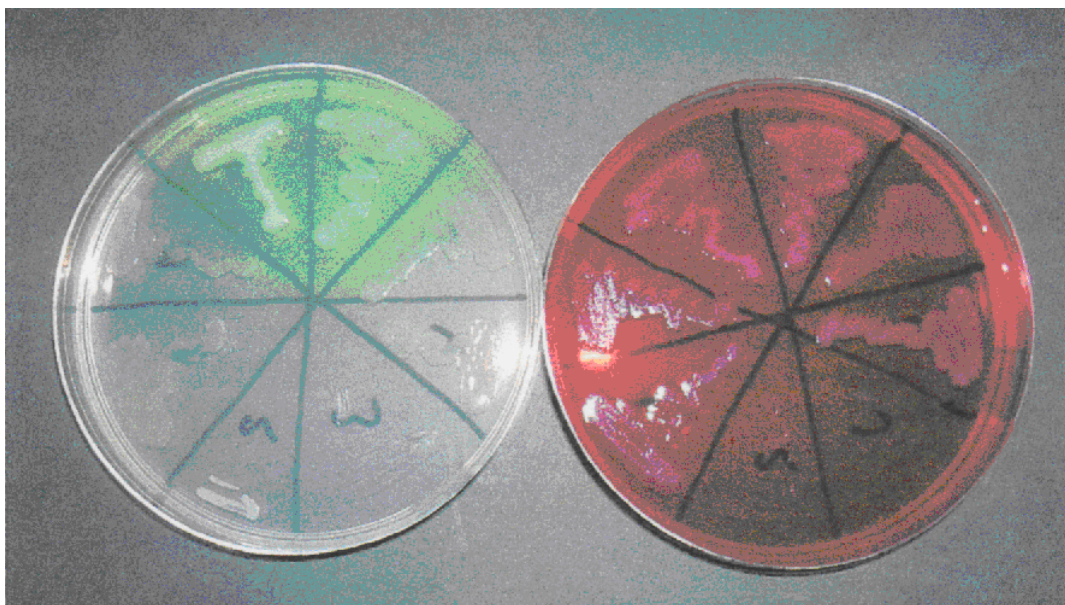
hőmérséklet (°C)	kezdeti előcsíraszám ($\log y_0$)	lag fázis (lag(óra))	szaporodási sebesség (rate(logKKE/óra))	végző előcsíraszám ($\log y_{end}$)
4	4.17	55.2	0.041	9.45
8	5.19	46.3	0.117	9.58
12	3.41	13.7	0.126	9.42

5. táblázat. Szeletelt sertéskaraj 4,8,12°C-os tárolása során kapott szaporodási görbe-illesztések jellemzői, *Pseudomonas* számra

hőmérséklet (°C)	kezdeti előcsíraszám ($\log y_0$)	lag fázis (lag(óra))	szaporodási sebesség (rate(logKKE/óra))	végző előcsíraszám ($\log y_{end}$)
4	2.69	44.6	0.045	8.62
8	3.5	44.1	0.109	8.12
12	1.19	0	0.105	7.58

Ezekben a kísérletekben még Cetrimid szelektív táptalajt alkalmaztam a *Pseudomonas* szám meghatározására, de már ekkor felmerült a gyanú, hogy ez a szelektív *Pseudomonas* táptalaj egyes, *Pseudomonas* törzsek kinövését is gátolja.

Ezt arra alapoztam, hogy az utolsó tárolási napok vizsgálatainál az aerob összes élőcsírszám számlálásakor nagy százalékban azonosítottam *Pseudomonas* telepeket is. Erre bizonyítékként szolgált az is, hogy összehasonlítva a Cetrimid és GSP szelektív táptalajokat a GSP lemezen látványosan több *Pseudomonas* telep nőtt ki, ezt szemlélteti a **10. ábra** is.



10. ábra. Cetrimid (bal oldal) és GSP (jobb oldal) lemez összehasonlítása

Összegzésként elmondható, hogy a mikrobiológiai vizsgálat eredményei igazolták, hogy a hűtött szeletelt sertéshús romlását aerob tárolási körülmények között leginkább a specifikus romlást okozó *Pseudomonas* nemzetség okozza.

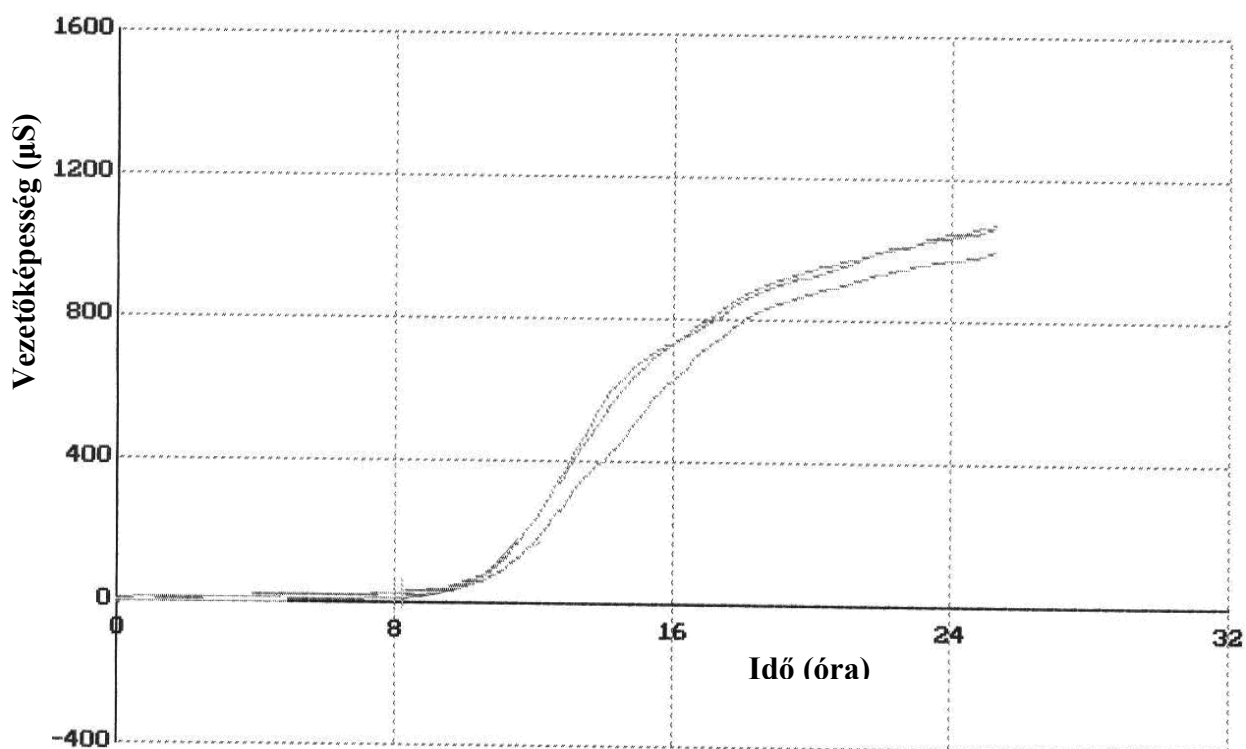
Ez az eredmény összhangban van a nemzetközi kutatásokkal. Dainty és társai (1992), vagy Gram és társai (2000) is megállapították, hogy hűtött aerob körülmények között tárolt húsok esetében a Gram-negatív pszichotróf mikroorganizmusok közül a *Pseudomonas*-ok válnak dominánssá. Mossel és társai (1995) arra is rávilágítottak, hogy a friss húsnál az aerob összes élőcsírszámnak mindössze a 10%-át teszik ki a *Pseudomonas*-ok, de mire a fogyasztóhoz ér ez a szint már eléri a 80%-ot. Ez a megállapítás is megegyezik az általam végzett mikrobiológiai vizsgálatokkal, vagyis, hogy a tárolás kezdetén még nem, de az idő előrehaladtával a pseudomonaszok válnak a domináns romlást okozó mikroorganizmusokká.

Vizsgálataim azt is bizonyították, hogy a tárolás közben a *Pseudomonas* nemzetség szaporodásának nyomon követésére a GSP táptalaj alkalmasabb, mint a szelektív Cetrimid táptalaj.

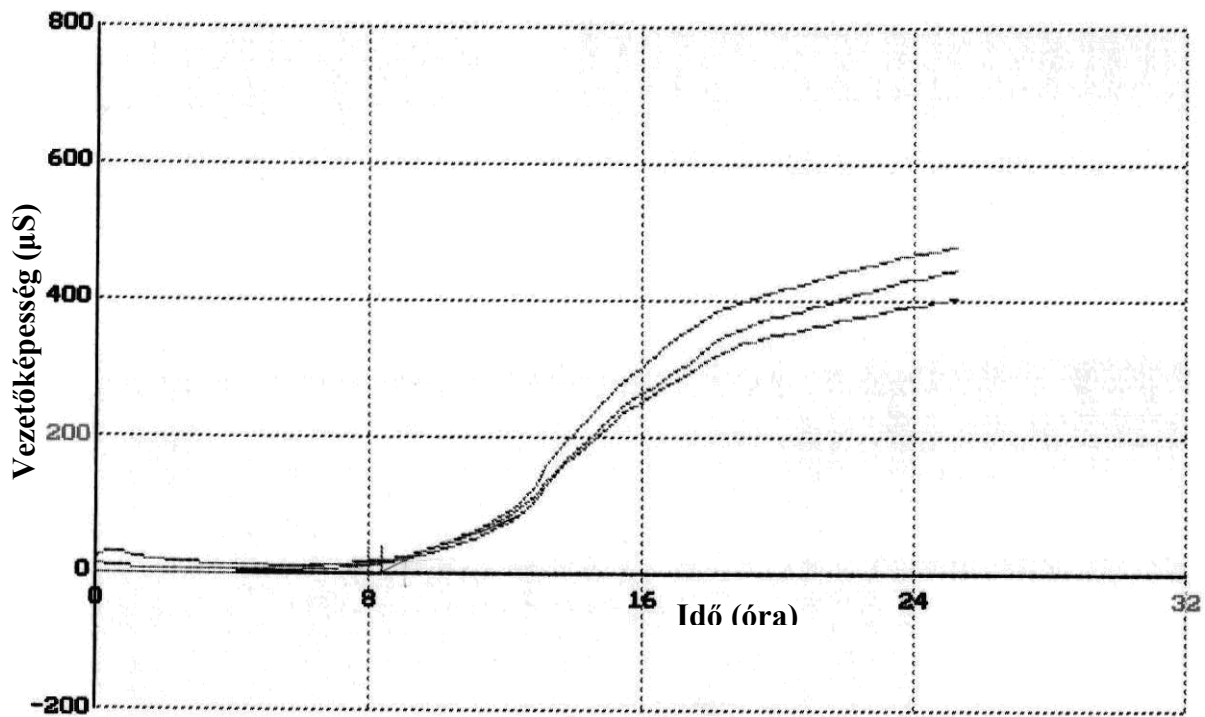
5.1.2. Baktériumok szaporodásának nyomonkövetése szeletelt sertéshúson automatikus impedimetriás mérésekkel

Impedimetriás méréseimet Malthus készülékkel végeztem. A Malthus készülékkel aerob összes élőcsíraszámot és *Pseudomonas* számot határoztam meg. A használt tápoldatok és módszer leírását az anyag és módszer fejezetben már ismertettem (4.2.3. fejezet).

Az aerob összes élőcsíraszám tápoldattal kapott tipikus impedimetriás görbéket a **11. ábra**, míg a *Pseudomonas*-t a **12. ábra** szemlélteti. Minden alkalommal 3 párhuzamos mérést végeztem. Az ábrák igazolják, hogy a mérések jól reprodukálhatóak, mert hasonló alakú és jellegű görbéket kaptam a vizsgálatok során. A detekciós idő mindkét esetben hasonló: az aerob összes élőcsíraszámánál 8,2 óra, a *Pseudomonas*-nál 8,4 óra. Fontos különbség viszont, hogy az aerob összes élőcsíraszámánál nagyobb vezetőképesség különbségváltozás jött létre, mint a *Pseudomonas*-nál.



11. ábra. Aerob összes élőcsíraszám tápoldattal végzett tipikus impedimetriás mérési eredménye szeletelt sertéskaraj esetében

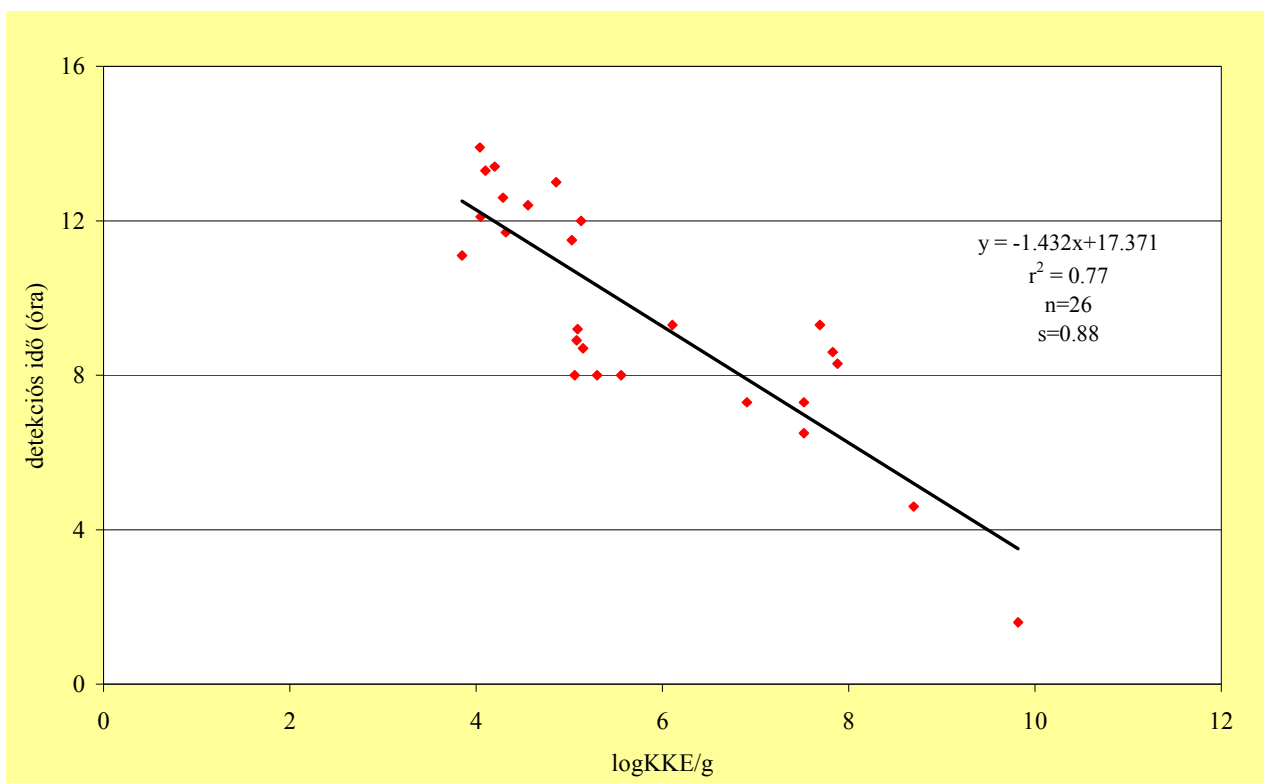


12. ábra. *Pseudomonas* szelektív tápoldattal végzett tipikus impedimetriás mérési eredménye szeletelt sertéskaraj esetében

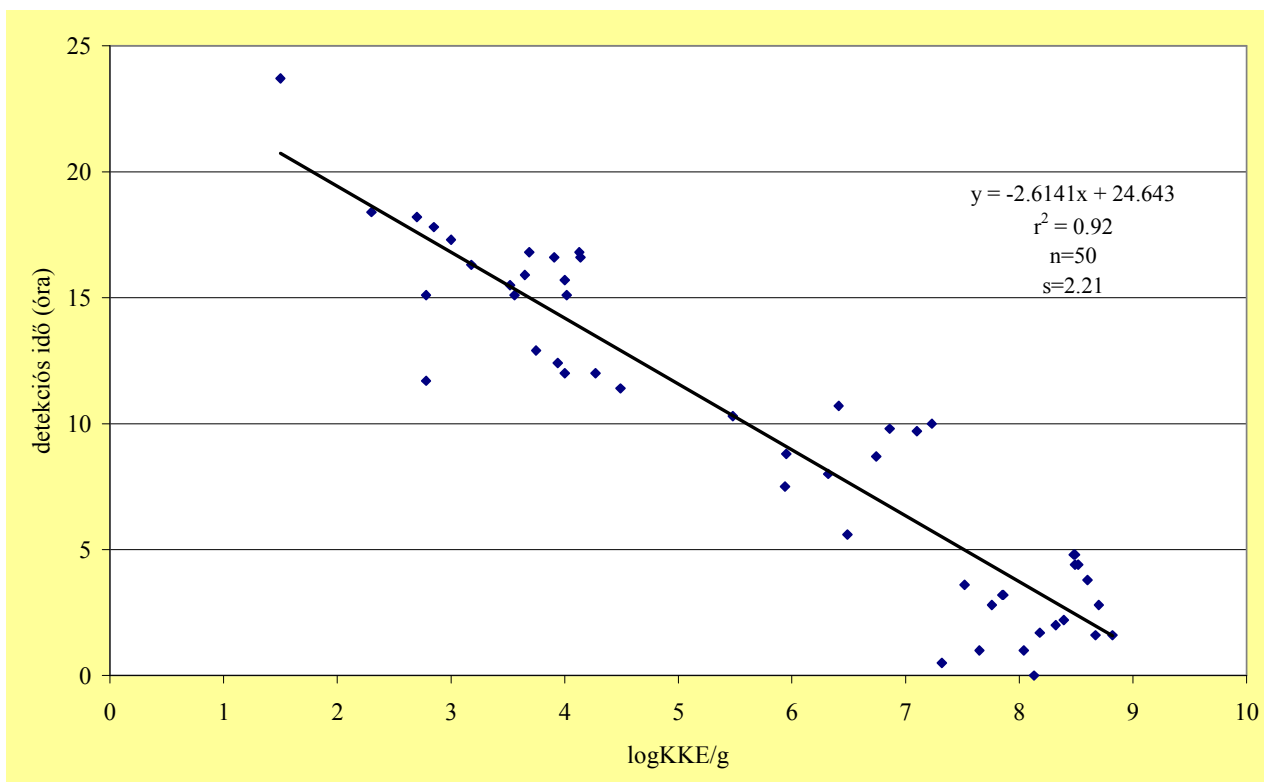
A detekciós idő és az aerob összes élőcsíraszám összefüggését a **13. ábra** mutatja, míg a detekciós idő és *Pseudomonas* szám kapcsolatát a **14. ábra** szemlélteti. Fontos megjegyezni, hogy míg a *Pseudomonas* tápoldat esetében mind három hőmérsékleten (4, 8, 12°C-on) tárolt szeletelt sertéskaraj adatai egy regressziós egyenessel voltak jellemezhetőek, addig az aerob összes élőcsíraszámál csak a 4, 8°C-os adatok képeztek egy regressziót.

Megfigyelhető, hogy a *Pseudomonas*-nál a minta elemszáma (n) 50, ennek ellenére a determinációs koefficiens (r^2) sokkal magasabb értéket (0.92) mutat, mint az aerob összes élőcsíraszámánál, ahol a minta elemszám mindösszesen 26 (HORVTÁTH et al. 2007a).

Az előbb leírtak alapján elmondható, hogy az aerob összes élőcsíraszám és a detekciós idő összefüggése, 4 és 8°C-os tárolásnál nagyban eltér a 12°C-tól. Magyarázat lehetséges, hogy az aerob összes élőcsíraszámot alkotó mikrobióta a hőmérséklet függvényében változik. A szelektíven meghatározott *Pseudomonas* számot a tárolási hőmérséklet kevésbé befolyásolta. A detekciós idő és a *Pseudomonas* szám közötti kapcsolat lényegesen szorosabb korrelációt mutatott mind a 3 hőmérsékleten mért értékeket figyelembe véve is, mint az aerob összes élőcsíraszámánál.



13. ábra. Aerob összes élőcsíraszám és detekciós idő összefüggése szeletelt sertéskaraj esetében



14. ábra. *Pseudomonas* szám és detekciós idő összefüggése szeletelt sertéskaraj esetében

Bár az impedancia elvén működő Malthus készülék használata nem a leggyorsabb műszeres módszer, de a hagyományos kolóniaszámlálásnál, amelyhez minimum 72 órás inkubációs idő szükséges, lényegesen gyorsabb.

Összefoglalásként elmondható, hogy a Malthus készülék segítségével szeletelt sertéshús minta esetében az EU higiéniai követelményszintjének megítéléséhez (10^4 KKE/g) 12-13 óra szükséges, míg a mikrobiológiai elfogadhatóság határának (10^7 KKE/g) megállapítása 7-8 óra alatt megtörténhet. Ez a hagyományos kolóniaszámlálás idejének egytizede. Előnye még, hogy az impedimetriás készülékkel egyszerre sokkal több mintát vagyunk képesek vizsgálni, mint a hagyományos telepszámlálással (a Malthus készülék mintatartóinak száma 60) (HORVÁTH et al. 2007b).

Az eredményeimet a nemzetközi szakirodalommal összehasonlítva, elmondható, hogy Firstenberg-Eden 1983-ban nyers marhahúst vizsgált annak érdekében, hogy meghatározza az összes élőcsíraszámot impedimetriás módszerrel. A vizsgálatai során megállapította, hogy marhahús esetén a 10^4 KKE/g megállapításához 10 órára volt szükség, míg a 10^7 KKE/g-hez viszont elegendő volt már a 4 óra is.

Salvat és társai (1997) *Pseudomonas* spp. meghatározását végezték pulykahús esetében impedimetrás elven működő műszer segítségével. Vizsgálataik azt igazolták, hogy alacsony csíraszám (10^2 KKE/g) alatt és magas csíraszám (10^7 KKE/g) felett a detekciós idő és a logaritmikus élőcsíraszám nem, vagy csak bizonytalanul mutat lineáris összefüggést. Ez a tendencia az általam vizsgált szeletelt sertéshúsnál is hasonlóképpen alakult.

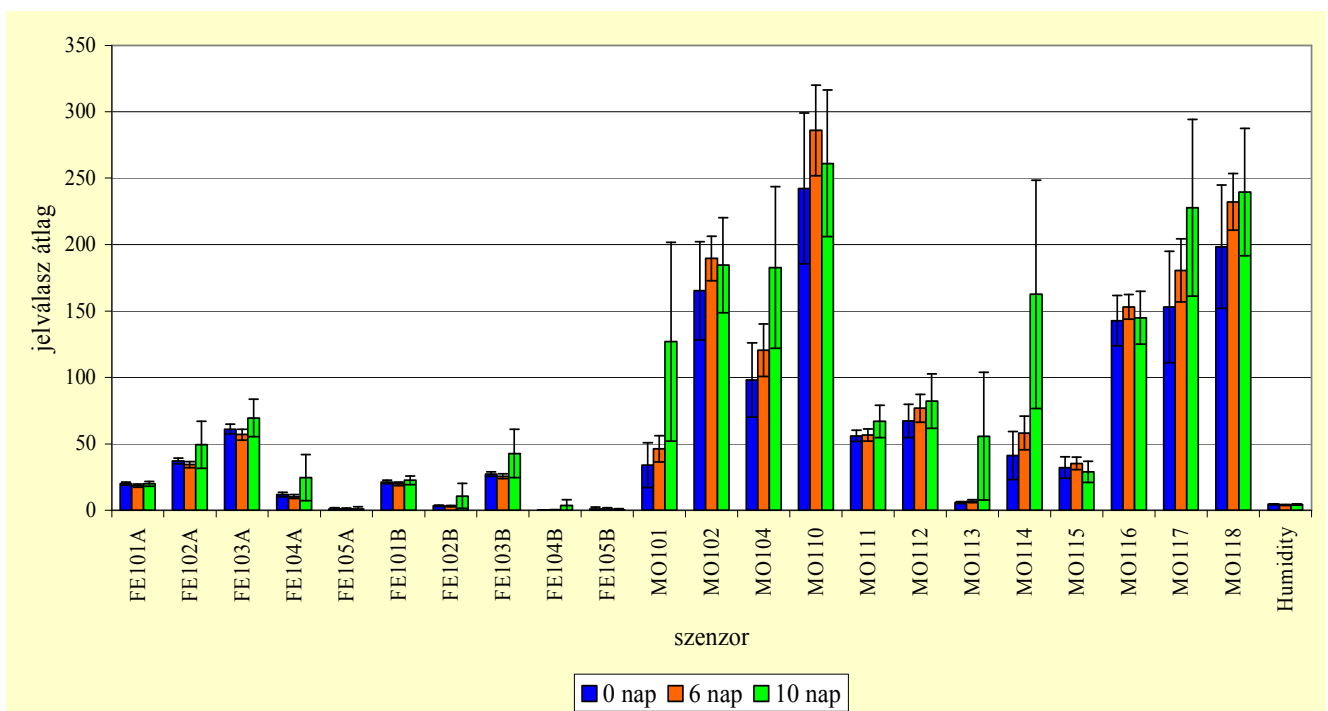
A vizsgálati eredményeim a szakirodalommal való összehasonlításnál kis eltéréseket mutattak, amelynek okai lehetnek a kísérleteknél alkalmazott különböző húsfajták és tárolási módok.

5.1.3. Szeletelt sertéshúson baktériumok szaporodásának nyomonkövetése elektronikus orr mérésekkel

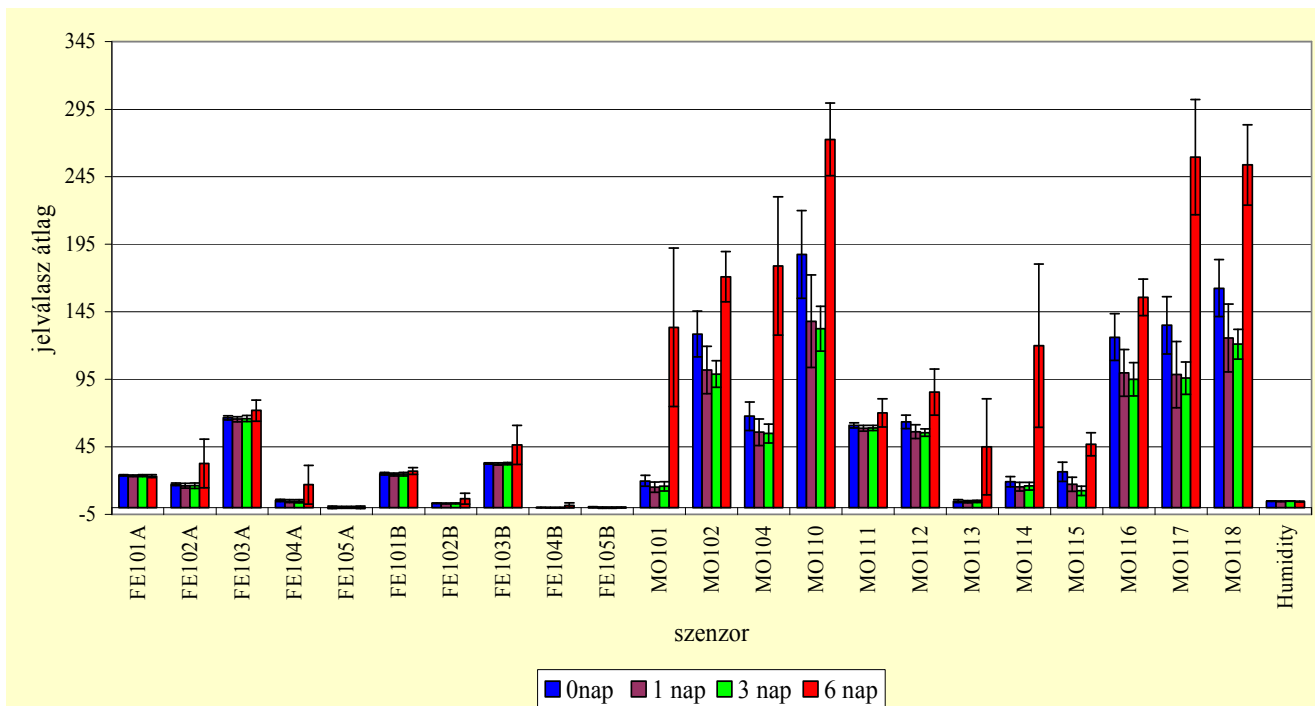
A szeletelt sertéskaraj mintákat ugyancsak 4, 8 és 12°C-on tároltam. A tárolási idők megegyeztek az előző vizsgálatoknál leírtakkal.

Az elektronikus orr mérési eredményeit matematikai-statisztikai értékelésekkel elemeztem. Az elektronikus orr jelválaszokat főkomponens és diszkriminancia analízissel és PLS kalibrációval értékeltem ki. A főkomponens és diszkriminancia vizsgálatokat SPSS 15. szoftverrel, míg a PLS módszert az UNSCRAMBLER 9.1 programmal végeztem.

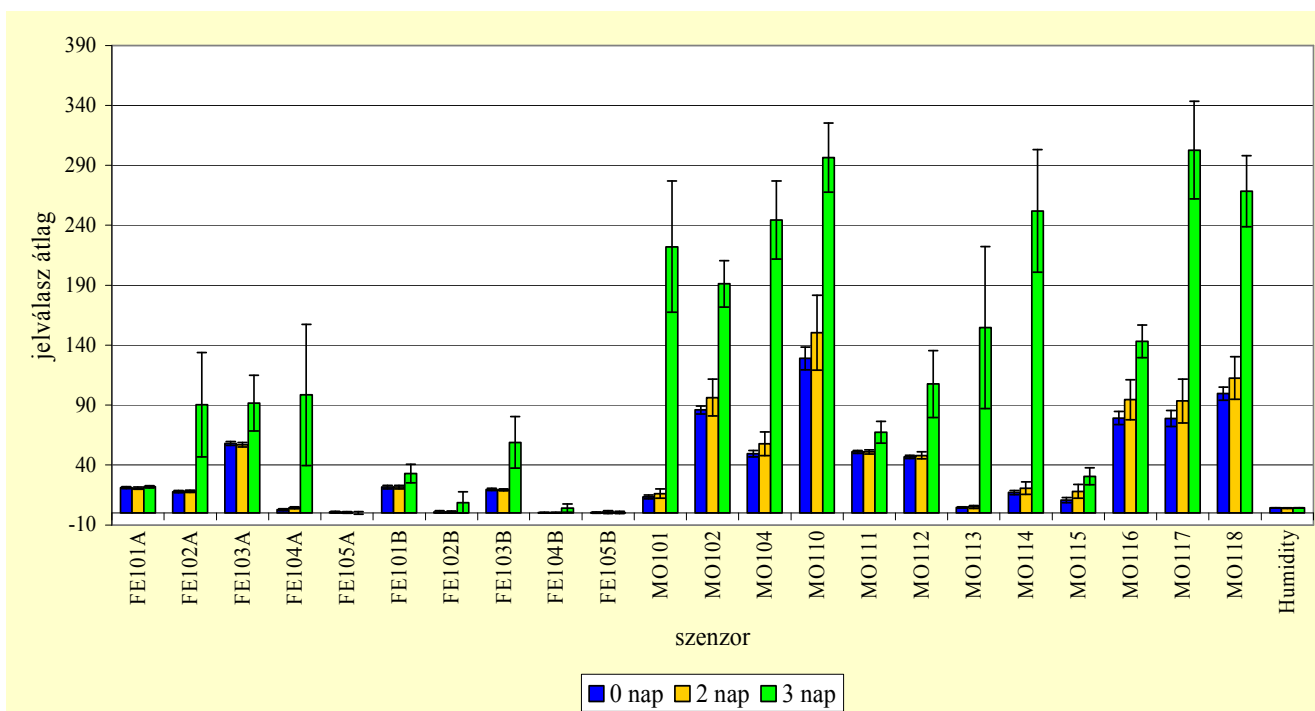
Elsőként az elektronikus orr szenzorjainak jelválaszait vizsgáltam a tárolási idő és hőmérséklet függvényében. A **15. ábrán** a 4°C-on, a **16. ábrán** a 8°C-on és a **17. ábrán** pedig a 12°C-on tárolt hús jellemző szenzor jelválasz változása figyelhető meg. 4°C-os tárolásnál csak a 0., 6., 10. napot, 8°C-on 0., 1., 3., 6. napot, míg 12°C esetében a 0., 2., 3. napot ábrázoltam a jobb áttekinthetőség érdekében.



15. ábra. Tipikus szenzor jelválasz változás 0., 6., 10. napon 4°C-on tárolt sertéskaraj esetében



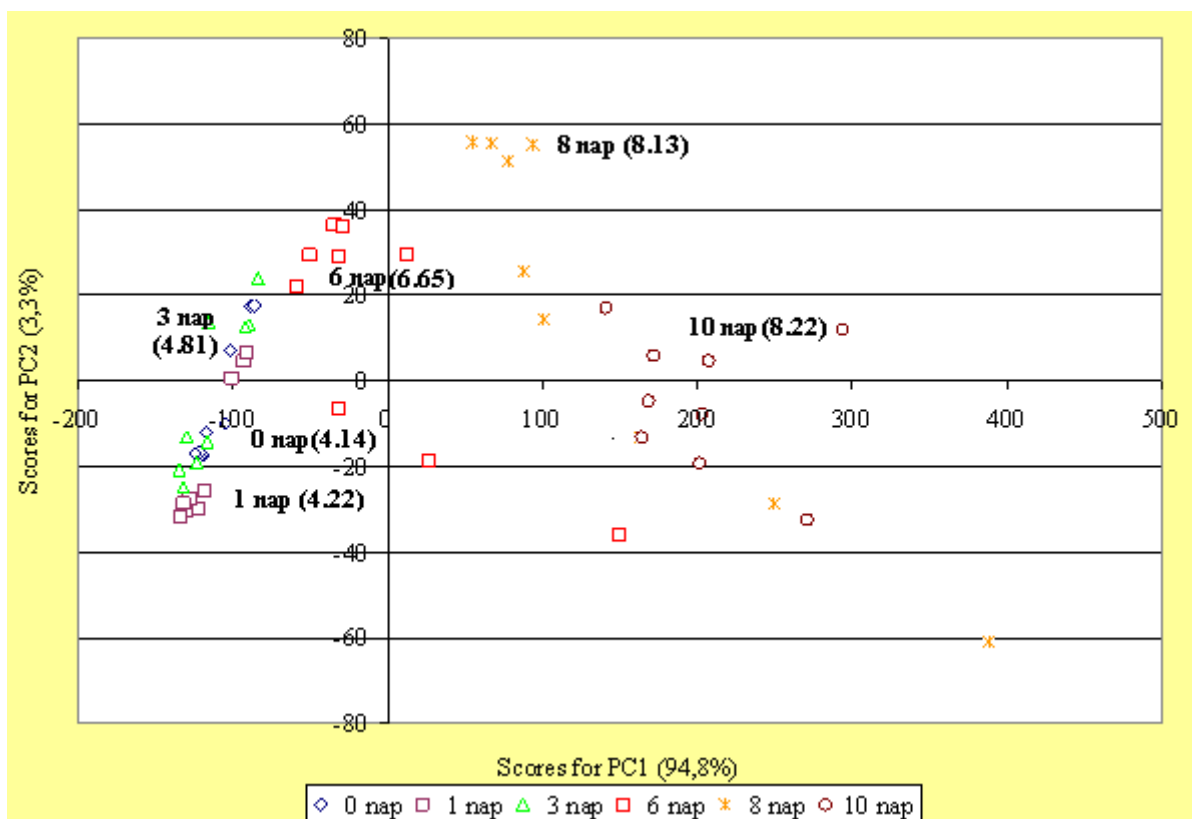
16. ábra. Tipikus szenzor jelválasz változás 0., 1., 3., 6. napon 8°C-on tárolt sertéskaraj esetében



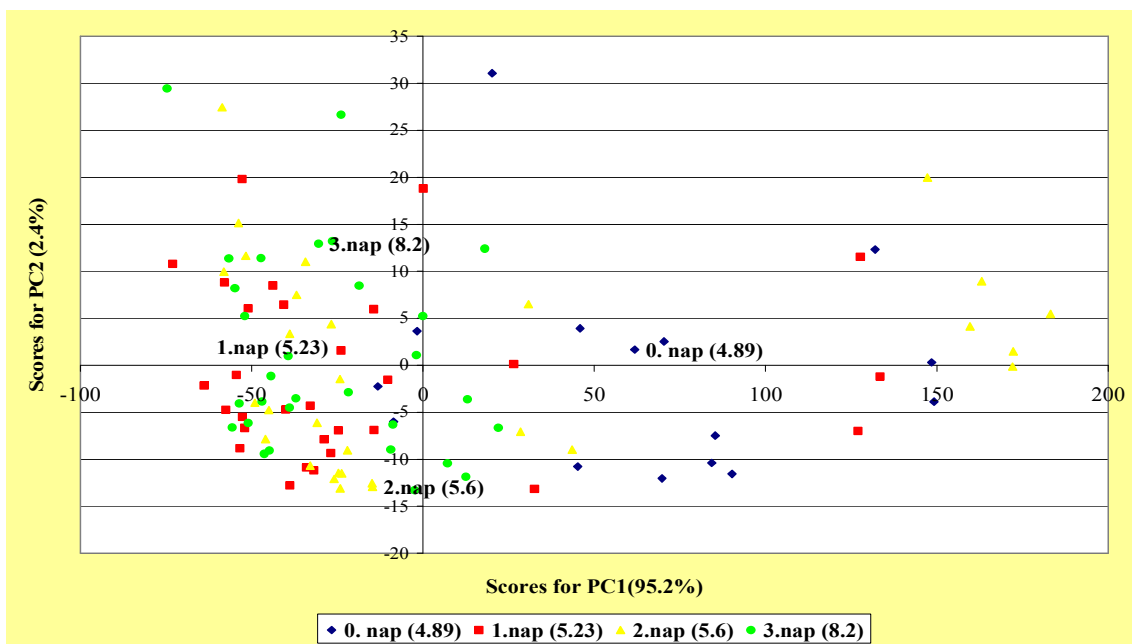
17. ábra. Tipikus szenzor jelválasz változás 0., 2., 3. napon 12°C-on tárolt sertéskaraj esetében

Megfigyelhető, hogy mind a három tárolási hőmérséklet esetén ugyanazok a szenzorok mutatták legjobban a tárolás során bekövetkező változást. Ezek a változások hasonló jelleget mutattak. A romló minták illatanyag változása számos „érzékeny” szenzor esetében nagy jelválasz növekedést eredményezett. Ez a változás nagy valószínűséggel összefüggésben volt a szeletelt setéshúsban a tárolás során bekövetkező baktériumnövekedéssel.

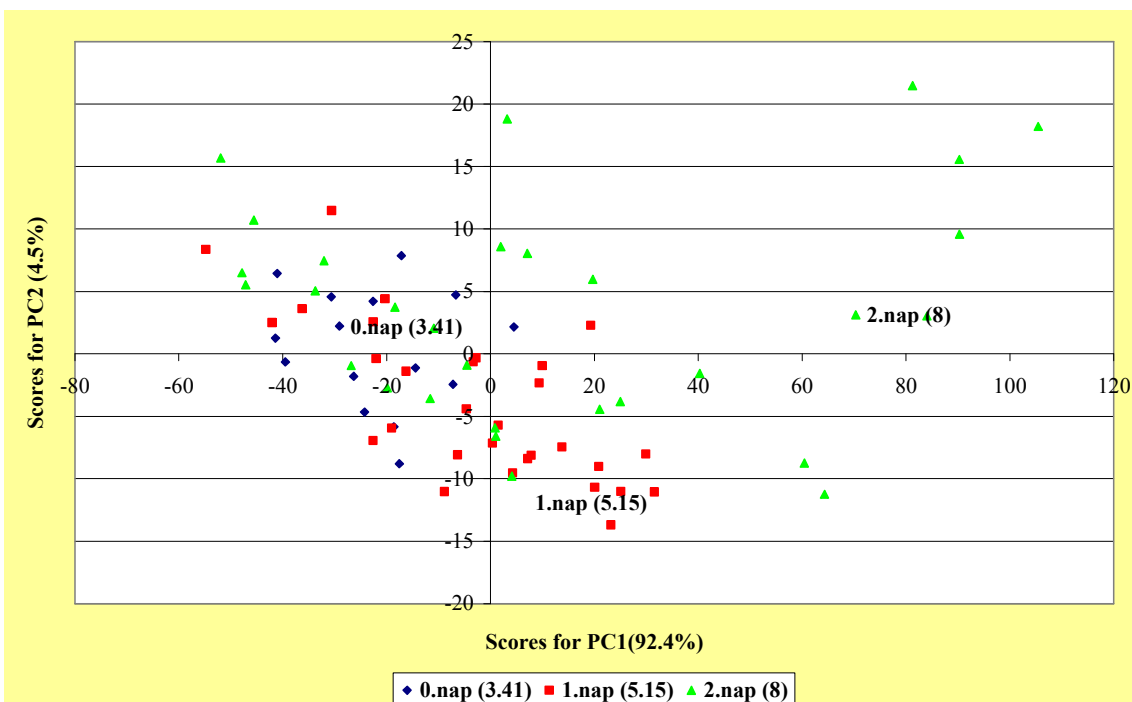
A 4°C-os hőmérsékleten tárolt hús minták minőségpontjainak elhelyezkedése az első és második a főkomponens által meghatározott vetítési síkon (score plot) a **18. ábrán** 8°C- os a **19. ábrán** 12°C- os pedig a **20. ábrán** látható. Megfigyelhető, hogy 4°C-os tárolás esetén a vetítési sík a variancia 98,1%-át, 8°C esetében a 97,6%-át és 12°C-nál pedig a 96,9%-át írja le. A minőségpontok mellett a tárolási napok, zárójelben pedig a naphoz tartozó aerob összes élőcsírszám értékek átlagai szerepelnek.



18. ábra. A 4°C-on tárolt szeletelt sertéskaraj minták minőségpontjainak elhelyezkedése az első és második a főkomponens által meghatározott vetítési síkon (score plot)
(A grafikonon zárójelben a tárolási napokhoz tartozó összes élőcsírszám átlag szerepel)



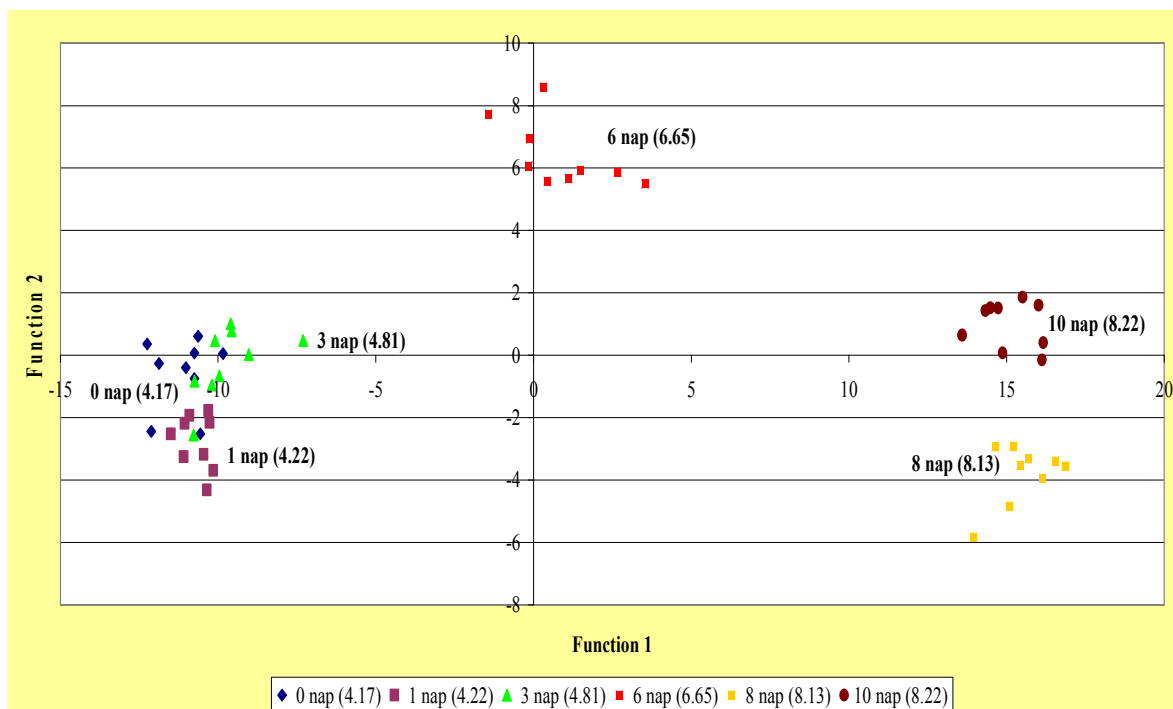
19. ábra. A 8°C-on tárolt szeletelt sertéskaraj minták minőségpontjainak elhelyezkedése az első és második a főkomponens által meghatározott vetítési síkon (score plot)
 (A grafikonon zárójelben a tárolási napokhoz tartozó összes élősíraszám átlag szerepel)



20. ábra. A 8°C-on tárolt szeletelt sertéskaraj minták minőségpontjainak elhelyezkedése az első és második a főkomponens által meghatározott vetítési síkon (score plot)
 (A grafikonon zárójelben a tárolási napokhoz tartozó összes élősíraszám átlag szerepel)

Ezen kívül még diszkriminancia analízist is alkalmaztam, annak érdekében, hogy megállapítsam különbséget lehet-e tenni friss és tárolt hús minták között az elektronikus orr jelválasz csoportjainak

segítségével, a tárolási idő és hőmérséklettől függően. A **21. ábrán** a 4°C-on tárolt hús diszkriminancia analízis score plotja látható a **6. táblázat** pedig a hozzá tartozó tévesztési mátrixot tartalmazza.



21. ábra. 4°C-on tárolt sertéskaraj minták minőségpontjainak elhelyezkedése a diszkriminancia analízis (score plot) alapján

(A grafikonon zárójelben a tárolási napokhoz tartozó összes élőcsíraszám átlag szerepel)

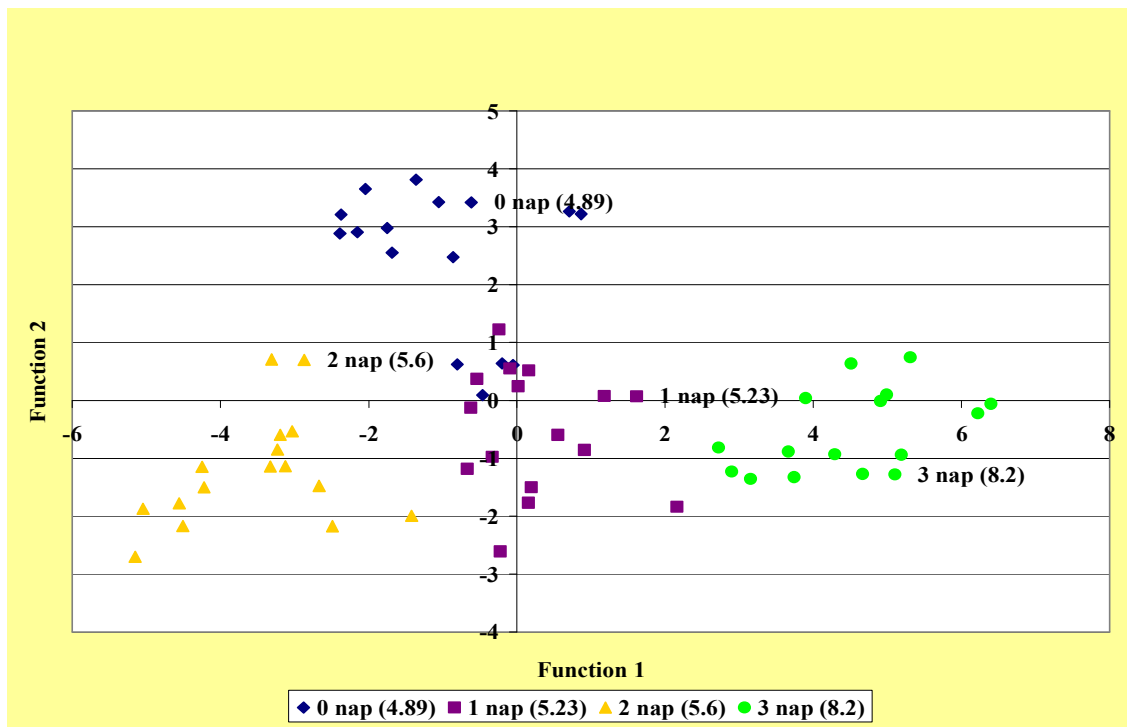
6. táblázat. 4°C-on tárolt sertéskaraj diszkriminancia analízisének tévesztési (klasszifikációs) mátrixa

		Számított csoportba tartozás							
		Napok	0 nap	1 nap	3 nap	6 nap	8 nap	10 nap	Összes
Eredeti	0 nap		100	0	0	0	0	0	100
	1 nap		0	100	0	0	0	0	100
	3 nap		0	11.1	88.9	0	0	0	100
	6 nap		0	0	0	100	0	0	100
	8 nap		0	0	0	0	100	0	100
	10 nap		0	0	0	0	0	100	100
Kereszt-validált	0 nap		88.9	11.1	0	0	0	0	100
	1 nap		11.1	77.8	11.1	0	0	0	100
	3 nap		11.1	33.3	55.6	0	0	0	100
	6 nap		0	0	0	88.9	0	11.1	100
	8 nap		0	0	0	0	77.8	22.2	100
	10 nap		0	0	0	11.1	0	88.9	100

98.1% az eredetileg csoportosított minták helyes besorolása

79.6% a kereszt-validált minták helyes besorolása

A 22. ábrán a 8°C-on tárolt hús diszkriminancia analízis score plotja látható a 7. táblázat pedig a hozzá tartozó tévesztési mátrixot tartalmazza.



22. ábra. 8°C-on tárolt sertéskaraj minták minőségpontjainak elhelyezkedése a diszkriminancia analízis (score plot) alapján

(A grafikonon zárójelben a tárolási napokhoz tartozó összes élőcsíraszám átlag szerepel)

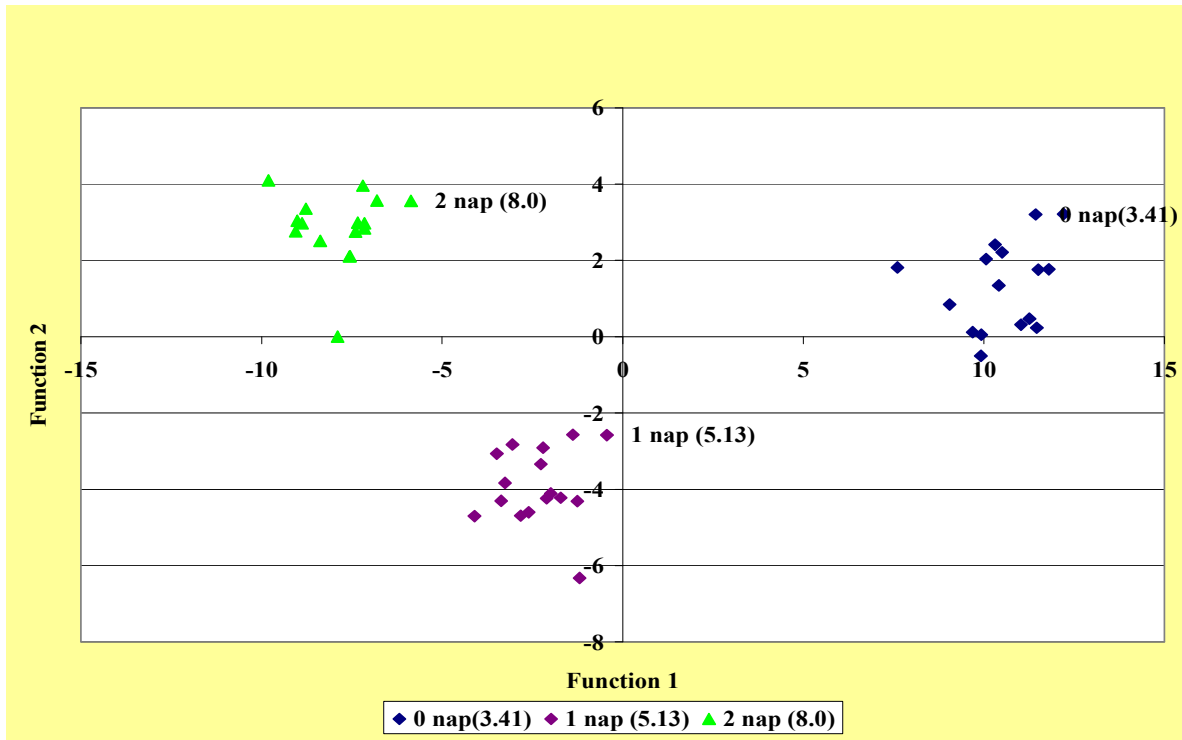
7. táblázat. 8°C-on tárolt sertéskaraj diszkriminancia analízisének tévesztési (klasszifikációs) mátrixa

		Számított csoportba tartozás				
Napok		0 nap	1 nap	2 nap	3 nap	Összes
Eredeti	0 nap	86.7	13.3	0	0	100
	1 nap	0	100	0	0	100
	2 nap	0	0	100	0	100
	3 nap	0	0	0	100	100
Kereszt-validált	0 nap	66.7	26.7	0	6.7	100
	1 nap	33.3	60	0	6.7	100
	2 nap	6.7	26.7	66.7	0	100
	3 nap	0	20	0	80	100

96,7% az eredetileg csoportosított minták helyes besorolása

68,3% a kereszt-validált minták helyes besorolása

A **23. ábrán** a 12°C-on tárolt hús diszkriminancia analízis score plotja látható a **8. táblázat** pedig a hozzá tartozó tévesztési mátrixot mutatja be.



23. ábra. 12°C-on tárolt sertéskaraj minták minőségpontjainak elhelyezkedése a diszkriminancia analízis (score plot) alapján

(A grafikonon zárójelben a tárolási napokhoz tartozó összes élőcsíraszám átlag szerepel)

8. táblázat. 12°C-on tárolt sertéskaraj diszkriminancia analízisének tévesztési (klasszifikációs) mátrixa

		Számított csoportba tartozás			Összes
		Napok	0 nap	1 nap	
Eredeti	0 nap	100	0	0	100
	1 nap	0	100	0	100
	2 nap	0	0	100	100
Kereszt-validált	0 nap	100	0	0	100
	1 nap	0	100	0	100
	2 nap	0	0	100	100

100.0% az eredetileg csoportosított minták helyes besorolása

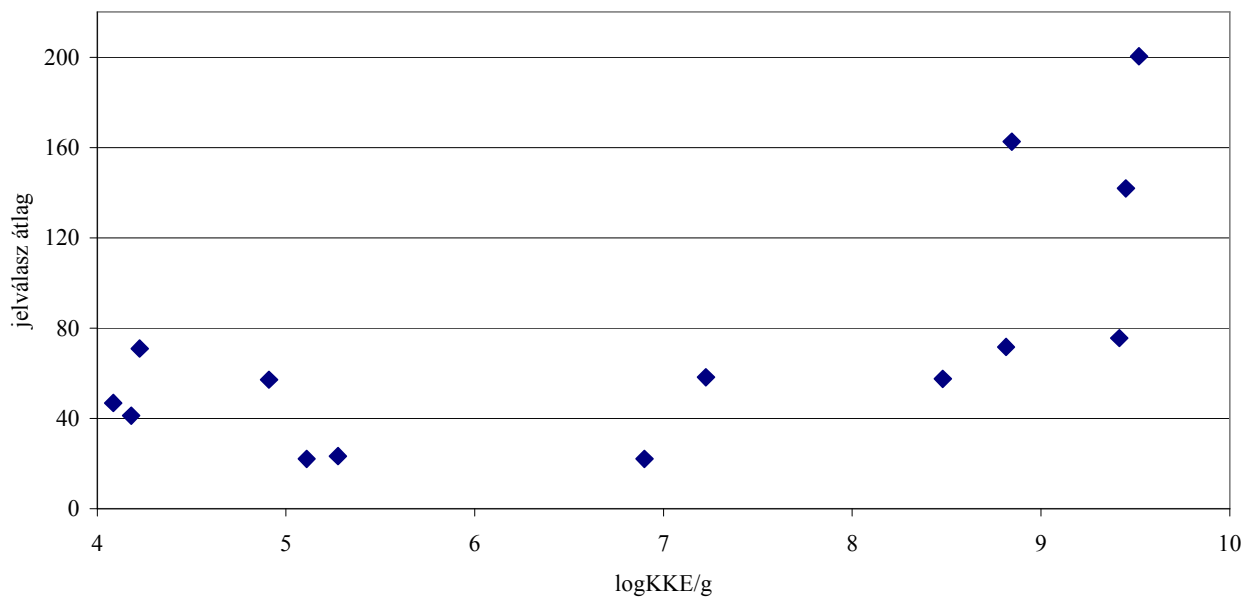
100.0% a kereszt-validált minták helyes besorolása

A 4 °C-os tárolás esetén a helyesen visszahelyezett minták százaléka majdnem 80 % (79,6%), a 8°C-os tárolásnál ez nem éri el a 70%-ot sem (68,3%), a 12°C-os tárolás helyesen besorolt minták aránya pedig 100%.

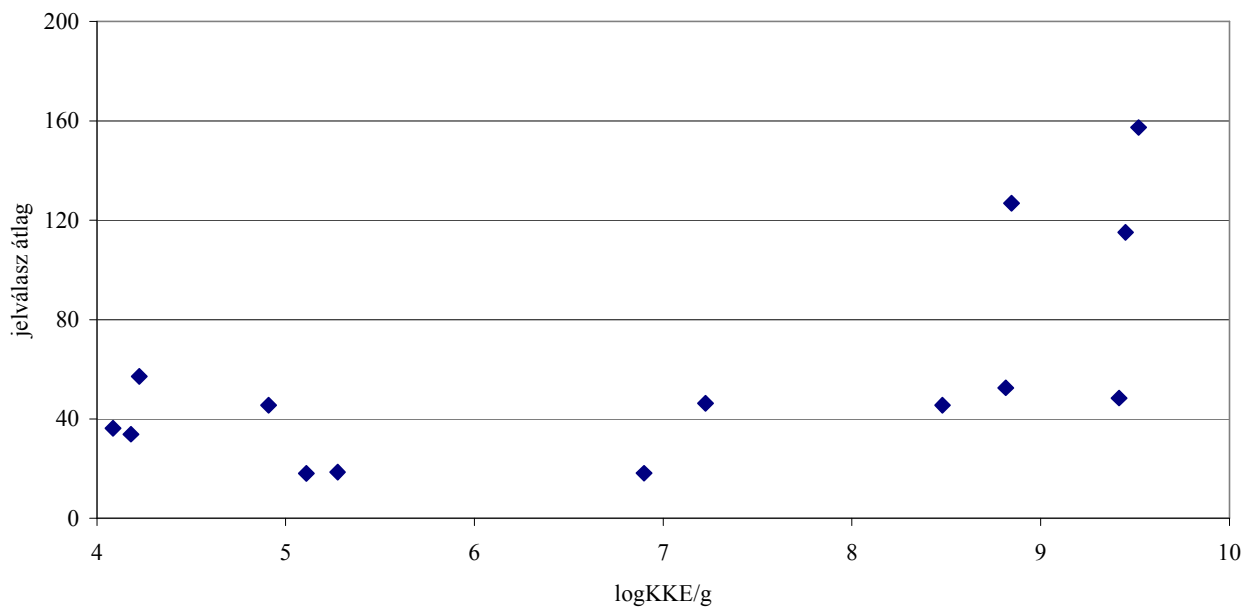
Az elektronikus orr szenzorjainak vizsgálatát folytatva megvizsgáltam, hogyan változik a jelválasz a csíraszám függvényében.

Megfigyelhető a **24.** illetve a **25. ábrán** is, hogy az elektronikus orr kiválasztott érzékelőjének jelválasza 10^6 KKE/g alatt független a csíraszámától. A **24.** illetve a **25. ábrán** mind a három tárolási hőmérséklet (4, 8, 12°C) adatai megtalálhatóak. A **24. ábrán** az aerob összes élőcsíraszám függvényében ábrázoltam az elektronikus orr jelválaszokat, míg a **25. ábrán** a *Pseudomonas* szám függvényében.

Az egyedi szenzor jelválasz korrelációját figyelembe véve elmondható, hogy 10^7 KKE/g felett lineáris korrelációt mutat az emelkedő logaritmikus baktérium számmal. Lineáris korreláció az aerob összes élőcsíraszám függvényében megfigyelhető volt az ábrázolt szenzoron kívül még a következőknél: FE 103B, MO 115, MO116, MO 1127, MO 118. A *Pseudomonas* szám függvényében lineáris korreláció az MO 101 szenzoron kívül mindössze két szenzornál, az MO 115-nél és MO 116-nál volt megfigyelhető. Az összes tárolási napot figyelembe véve, mind az aerob összes élőcsíraszám, mind pedig a *Pseudomonas* szám és az elektronikus orr jelválasz összefüggésénél a mintaelemszám 14. A 10^7 KKE/g alatti élőcsíraszám szint alatt a keletkező illatanyag még túl kicsiny koncentrációja is ok lehet arra, hogy az elektronikus orr jel nem adott lineáris korrelációt a baktérium számmal.

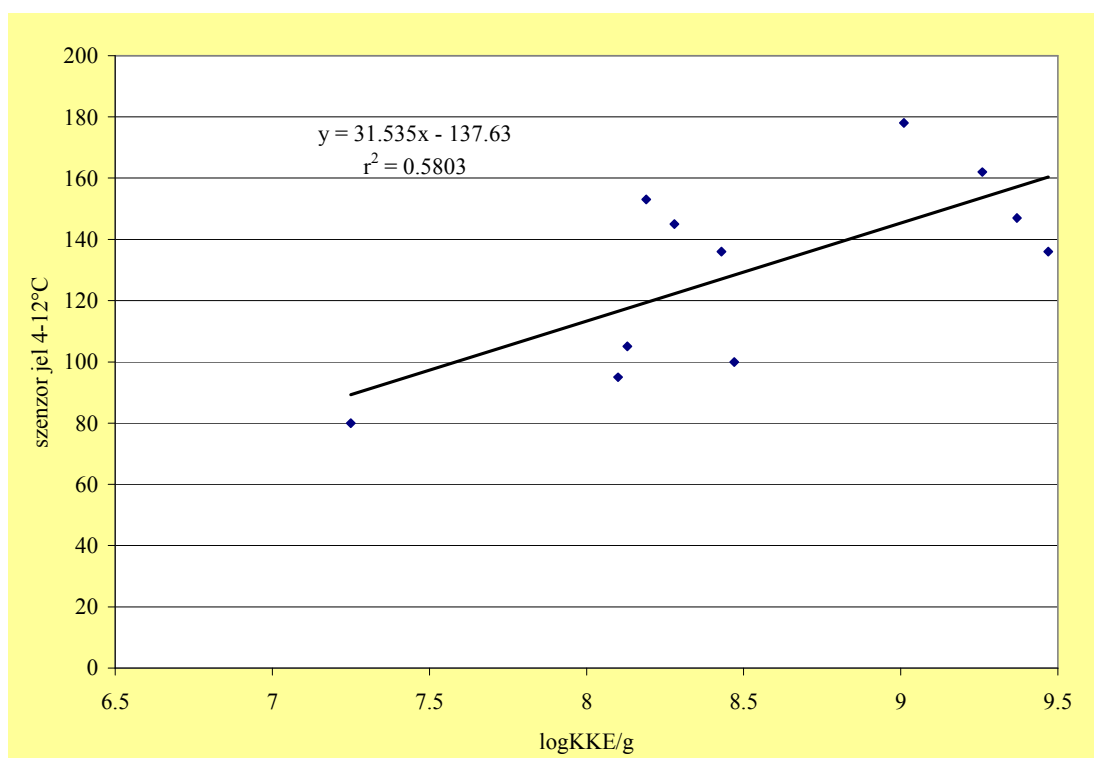


24. ábra. Az aerob összes élőcsíraszám függvényében az MO 114-es elektronikus orr szenzor jelválasz változása szeletelt sertéskaraj esetében

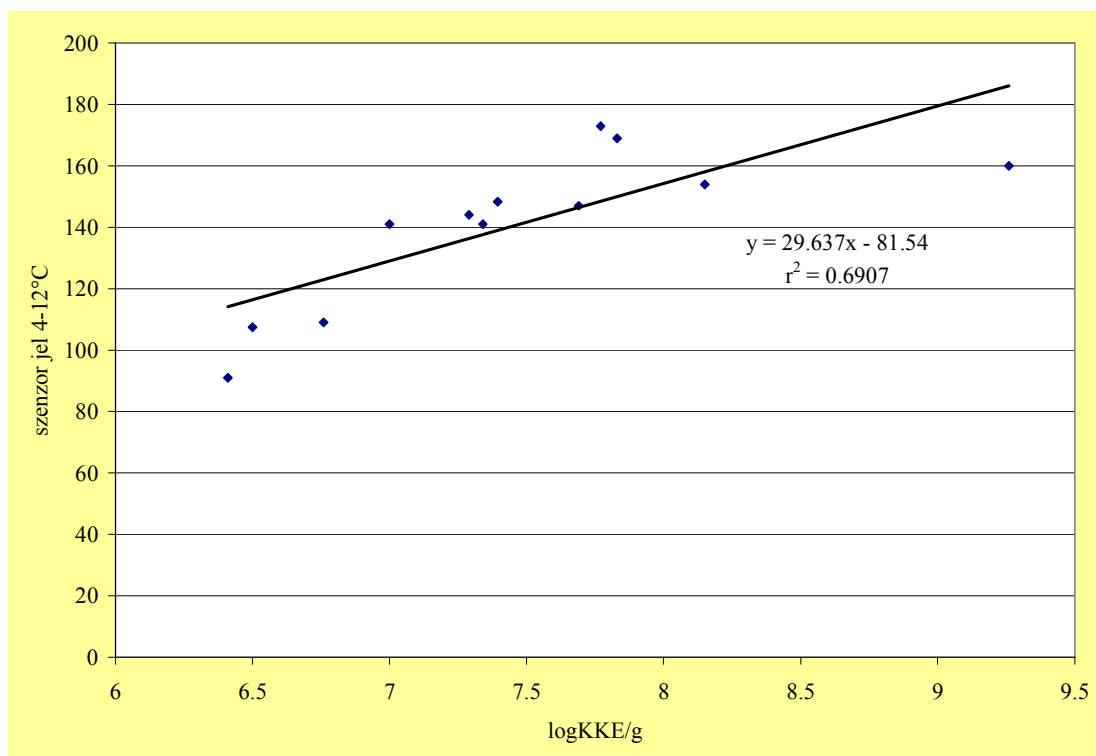


25. ábra. A *Pseudomonas* szám függvényében az MO 101-es elektronikus orr szenzor jelválasz változása szeletelt sertéskaraj esetében

Mindezek után lineáris regressziót alkalmaztam annak érdekében, hogy meghatározzam az aerob összes élőcsíraszám és a *Pseudomonas* szám matematikai kapcsolatát az elektronikus orr jelválaszával. Az aerob összes élőcsíraszám és az elektronikus orr jelválasz kapcsolatát a **26. ábra** a *Pseudomonas* szám és elektronikus orr jelválasz kapcsolatát pedig a **27. ábra** ábrázolja. A szenzor jelek esetében mind a három hőmérsékletre tartozó adatokat figyelembe vettem. Mindkét esetben a 10^7 KKE/g alatti csíraszám értékeket és a hozzájuk tartozó elektronikus szenzor jelválaszt kihagytam, így a mintaelemszám az aerob összes élőcsíraszám esetében 11-re, *Pseudomonas* esetében pedig 12-re csökkent le. Az aerob összes élőcsíraszám esetében az $r^2 = 0.58$, míg *Pseudomonas*-nál ez az érték 0.69-re emelkedett.



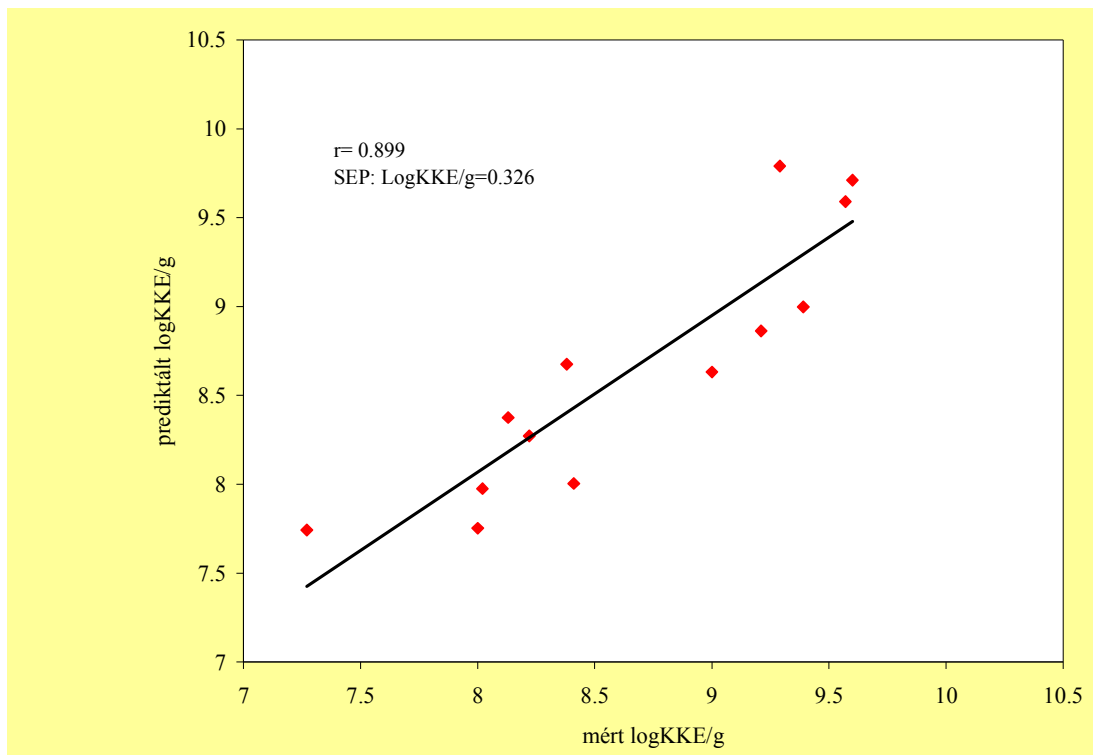
26. ábra. Elektronikus orr jelválasza és az aerob összes élőcsíraszám közötti korreláció, 4,8,12°C-on tárolt sertéskaraj adatait figyelembe véve



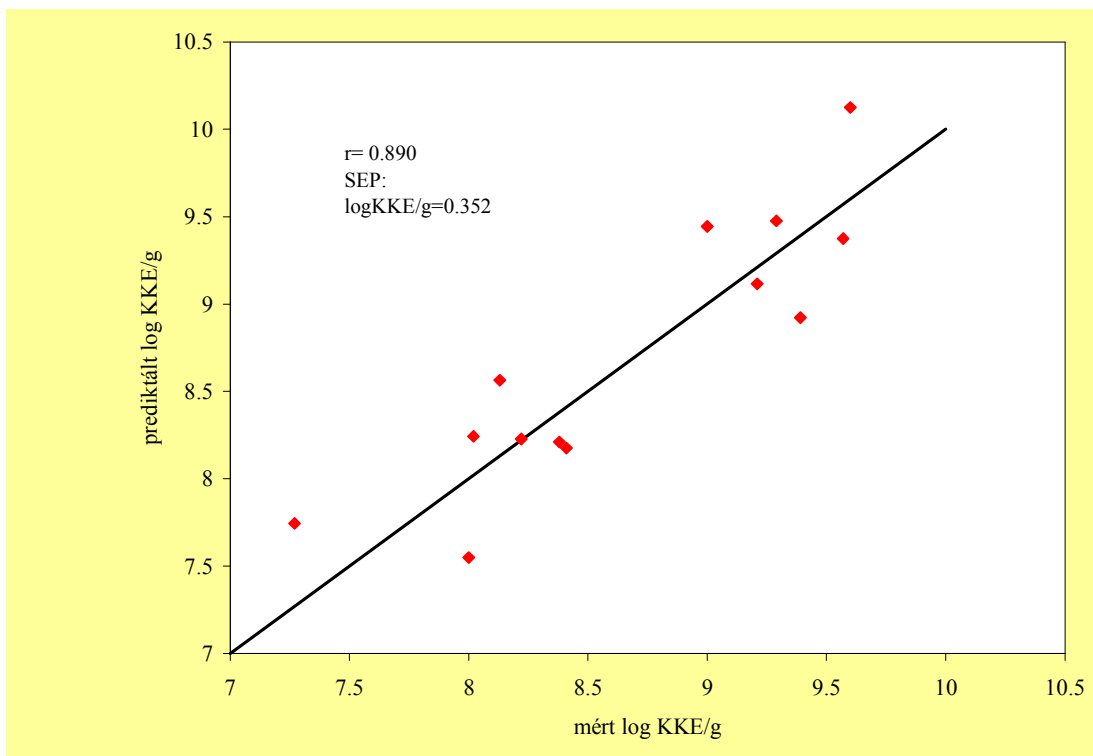
27. ábra. Elektronikus orr jelválasza és a *Pseudomonas* szám közötti korreláció, 4,8,12°C-on tárolt sertéskaraj adatait figyelembe véve

Végezetül a vizsgált húsminták elektronikus orr jeleit és az aerob összes élőcsíraszámok kapcsolatát részleges legkisebb négyzetek (PLS) módszerével modelleztem. Az **28. ábra** mutatja a PLS értékelésem eredményeit az elektronikus orr esetében, ahol még 23 érzékelőt vettem figyelembe, a **29. ábrán** már csak a 9 legreaktívabbat.

Megfigyelhető, hogy a 14 kevésbé érzékeny szenzor elhagyása, a kiszámított modell hatékonysági paramétereit alig változtatta meg. A korrelációs koefficiens (r) 0,899 csak 0,890-re csökkent.



28. ábra. PLS kiértékelés eredménye 4,8,12°C-on tárolt sertéskaraj esetében, mind a 23 szenzor adatait figyelembe véve



29. ábra. PLS kiértékelés eredménye 4,8,12°C-on tárolt sertéskaraj esetében, csak 9 szenzor adatait figyelembe véve

Összegzésként elmondható, hogy az elektronikus orr alkalmas a romlást okozó baktériumok elszaporodásának jelzésére aerob körülmények között tárolt sertéshús esetén.

Smolander és társai egy 2004-es cikkükben igazolták, hogy egyértelmű kapcsolat van a hőmérsékletemelkedés és a mikrobiológiai romlás között, ezáltal a romlás közben keletkező illatanyagok között is. Az általuk vizsgált termék a broiler csirke volt.

Az általam végzett vizsgálatok is alátámasztották, hogy a hőmérséklet-növekedés megváltoztatja a romlásért felelős mikrobiótákat és a keletkező illatanyagokat. Rajamäki és társai (2006) különböző hőmérsékleten tárolt módosított atmoszférás csomagolású broiler csirkét vizsgáltak. Vizsgálataik igazolták, hogy az első és második főkomponens által meghatározott vetítési sík a varianciák több mint 97%-át írja le hőmérséklettől függetlenül. Annak ellenére, hogy sem a tárolt hús, sem pedig a tárolási hőmérséklet nem egyforma a cikkben leírtakkal, a százalékos érték közel azonos az általam vizsgált három tárolási hőmérsékletre elvégzett főkomponens analízis variancia százalékos értékével.

Az elektronikus orr megbízható eredményeket mutatott 10^7 KKE/g csíraszámától kezdve, vagyis már a hús érzékszervileg érzékelhető romlása előtt képes volt észlelni illatanyag változást a romlás során.

10^7 KKE/g élőcsíraszám-szint felett az elektronikus orr kiválasztott érzékelőinek jelválasz lineáris korrelációt mutatott a növekvő baktérium számmal.

Mindezek miatt a kísérletek arra engednek következtetni, hogy az elektronikus orr és a korszerű statisztikai eljárások kombinációja alkalmas lehet a frissesség csökkenés és a baktérium szaporodás gyors és roncsolás-mentes kimutatására, mielőtt még érzékszervileg érzékelhető lenne a mikrobiológiai romlás (HORVÁTH et al. 2007c).

A szenzorok vizsgálati eredményei igazolták, hogy egy kevesebb szenzort tartalmazó elektronikus orr is alkalmas lehet a vizsgálatok elvégzésére. Ezt alátámasztja, hogy kísérleteim során a kevésbé érzékeny szenzorokat elhagytam és a korrelációs koefficiens érték szinte alig változott. Így a 23 szenzor helyett elegendő volt 9 szenzor a vizsgálatokhoz.

Az elektronikus orról elmondható, hogy gyors, automatizálható és nem utolsósorban roncsolás mentes. Ezért ezzel a méréssel a standard mikrobiológiai módszerekhez képest az ellenőrzési/vizsgálati idő lényegesen lecsökkenthetővé válhat.

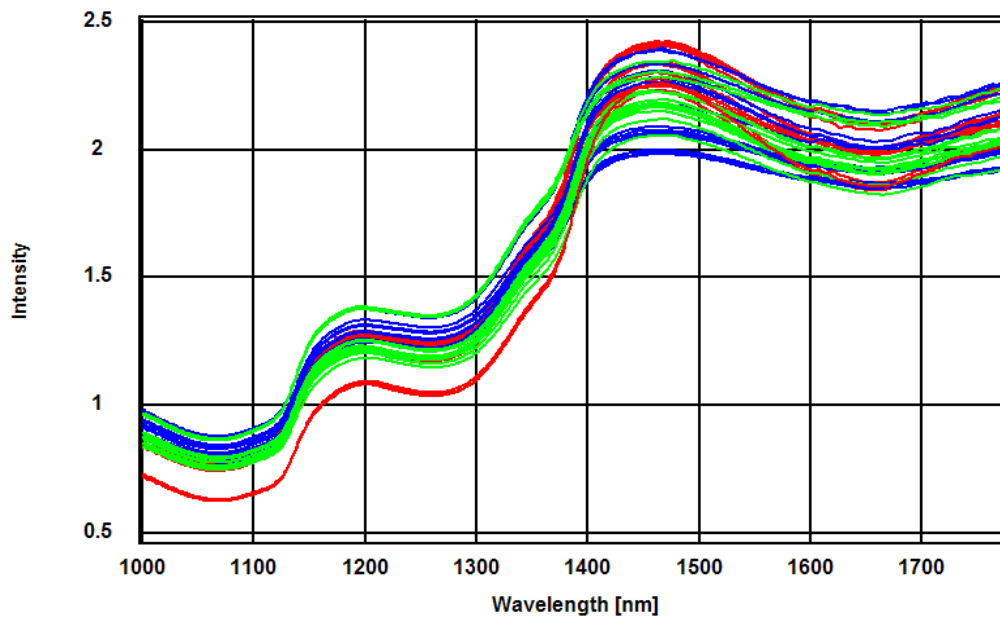
5.1.4. Közeli infravörös spektroszkópiás mérések szeletelt sertéshús frissességének és romlásának gyors becslése

A NIR mérésekhez a szeletelt sertéshúst 5,9 cm átmérőjű műanyag steril petricsészébe helyeztem. A hús szeletek vastagsága 10 mm volt. A közeli infravörös spektrumokat SPECTRALYZER 1025 PMC típusú NIR spektrométerrel vettem fel 1000-2500 nm között 2 nm spektrum kaputávolsággal. (A spektrumok 1800 nm fölött túl zajosak voltak, így az értékelésnél az 1800-2500 nm közötti hullámhossz tartományt nem vettem figyelembe). A méréseket szobahőmérsékleten végeztem (5-5 mintát 3-6 ismétléssel mértem meg).

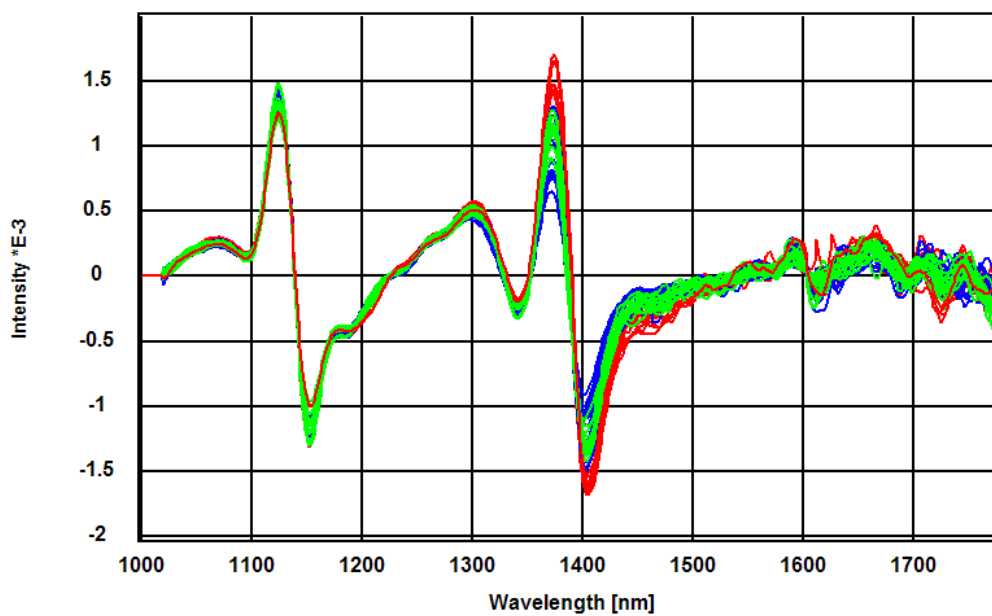
A NIR spektrumokat a statisztikai értékelést megelőzően második deriválással és "multiple scatter correction" (MSC) technikával „előkezelttem”. Főkomponens- és diszkriminancia analízist alkalmaztam a frissesség elvesztésének és a baktériumszaporodásnak tulajdonítható változásoknak a műszeres észlelésére a tárolási idő függvényében.

Az élőcsíraszámok és a NIR spektrumok kapcsolatát részleges legkisebb négyzetek (PLS) módszerével modelleztem. A diszkriminancia vizsgálatokat SPSS 15. szoftverrel, míg a PLS módszert és a főkomponens analízist pedig az UNSCRAMBLER 9.1 programmal értékeltem ki.

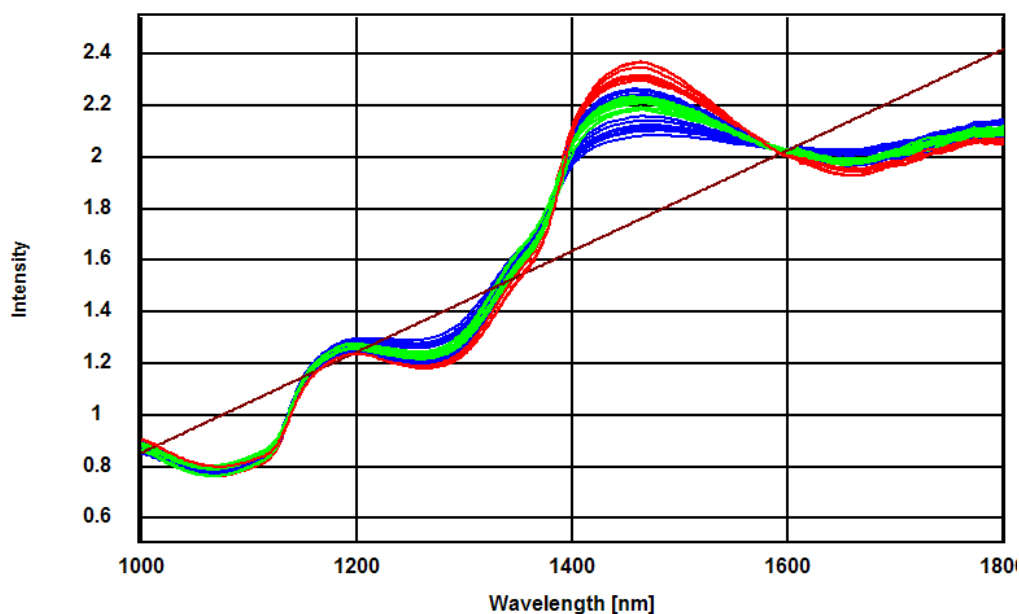
A szeletelt sertéshús minták jellegzetes NIR spektrumait (**30. ábra**) a matematikai-statisztikai értékeléseket megelőzően „simítottam”. Ezek után második deriválással (**31. ábra**) és MSC (**32. ábra**) technikával kezeltem elő a spektrumokat. Mind a három ábra esetén a kék szín a tárolási idő 0. napját a piros a 3. napját a zöld pedig a 6. napját jelzi.



30. ábra. Szeletelt sertéskaraj jellegzetes „simított” alapspektrumai ($\log(1/R)$ (1000-1800 nm-ig))

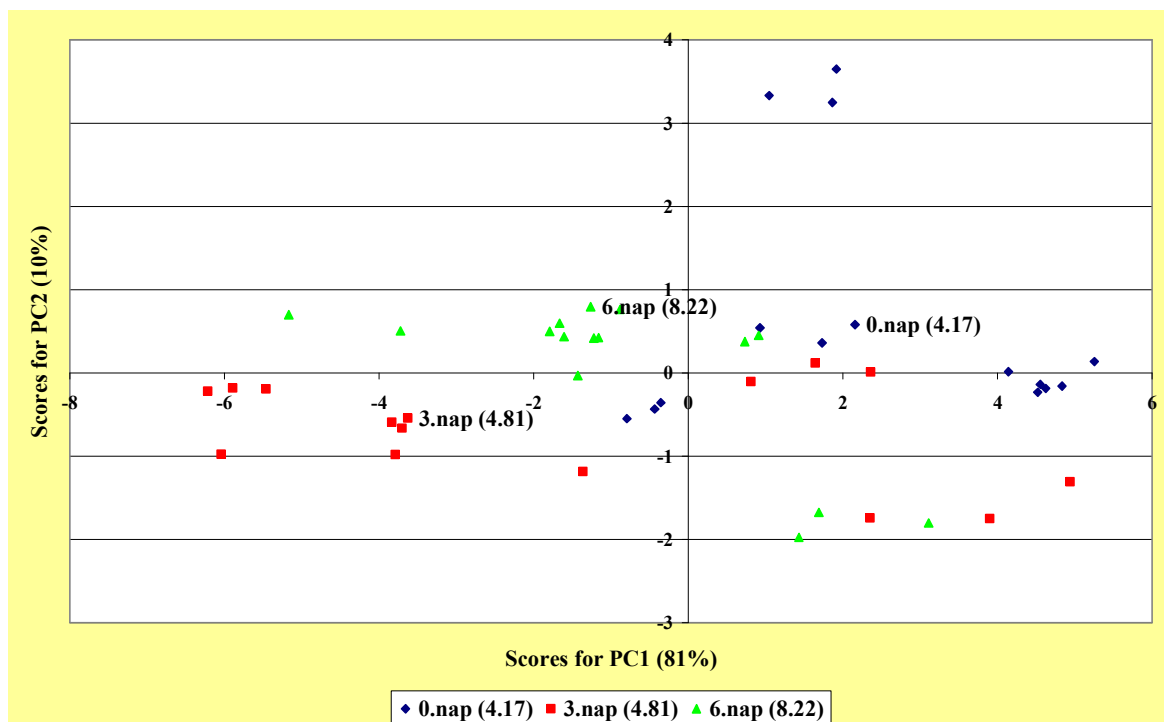


31. ábra. Szeletelt sertéskaraj simított, 2. derivált spektrumai (1000-1800 nm-ig)

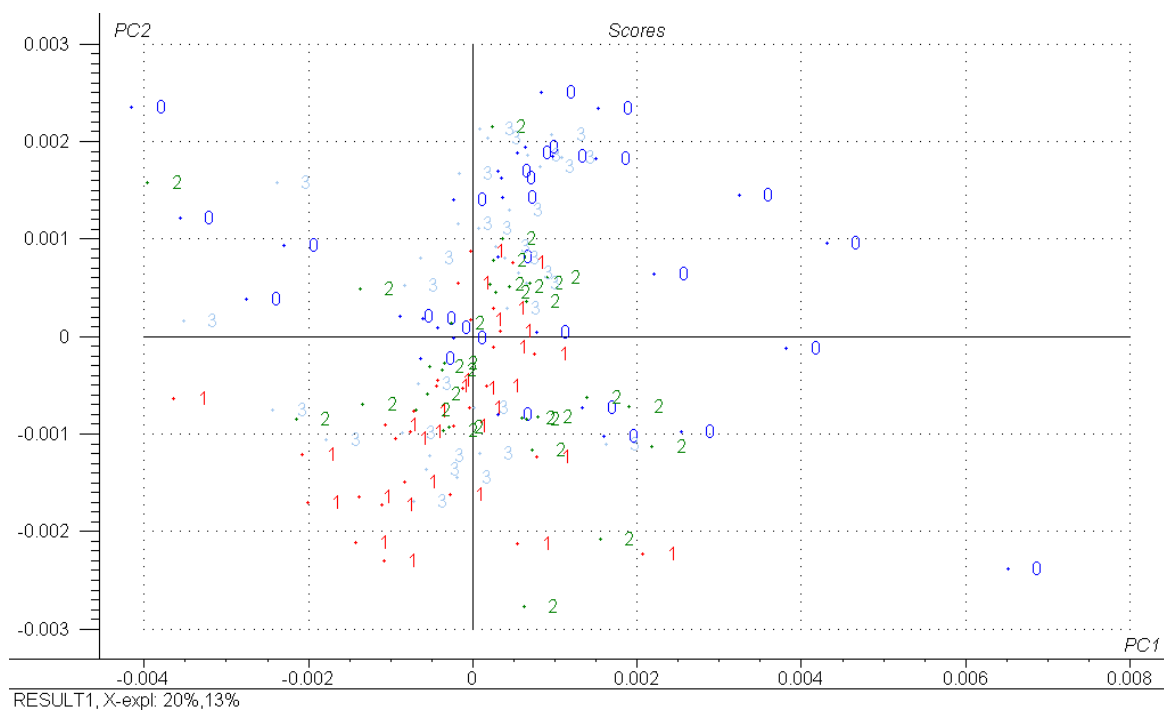


32. ábra. Szeletelt sertéskaraj simított MSC kezelt spektrumai (1000-1800 nm)

Főkomponens analízis vizsgálatot végeztem a 4°C-on tárolt szeletelt sertéshús MSC technikával előkezelt spektrumain az 1000-1800 nm közötti tartományban (**33. ábra**). A tárolási napok közül az átláthatóság kedvéért csak a 0., 3., 6. napot ábrázoltam az első és második főkomponens által meghatározott vetítési síkon. Megállapítható volt, hogy az első két főkomponens a varianciák 91%-át írja le (**33. ábra**). Szintén főkomponens analízis vizsgálatot végeztem a 12°C-on tárolt szeletelt sertéshús második derivált technikával előkezelt spektrumain az 1000-1800 nm közötti tartományban (**34. ábra**). Látható, hogy az első két főkomponens a varianciák csak 33%-át írja le (HORVTÁH et al. 2007d).



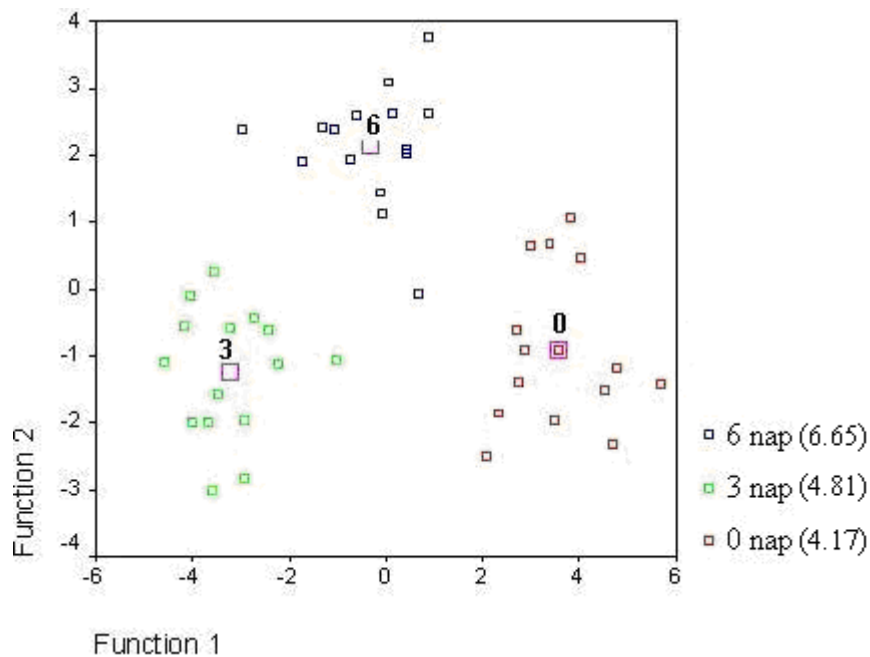
33. ábra. 4°C-on tárolt szeletelt sertéshús második derivált spektrumainak (1000-1800nm között) főkomponens analízisének „score plot-ja” (A grafikonon lévő számok a napokban megadott tárolási időtartamok, zárójelben pedig a hozzá tartozó összes élőcsíraszám átlag érték szerepel)



34. ábra. 12°C-on tárolt szeletelt sertéshús második derivált spektrumainak (1000-1800nm között) főkomponens analízisének „score plot-ja” (A grafikonon lévő számok a napokban megadott tárolási időtartamok)

Megfigyelhető volt, hogy a főkomponens analízis nem kezelte minden esetben megfelelően a csoportokat, ezért a három különböző tárolási hőmérséklet NIR adataira diszkriminancia analízist végeztem.

A második derivált 1200-1800 nm közötti spektrumok diszkriminancia analízis (CDA) grafikus ábrázolásait 4°C-on a **35. ábra** 8°C-on az **36. ábra** és 12°C-on a **37. ábra** mutatja. Az ezekhez tartozó tévedési mátrixok a **9-11. táblázatban** találhatóak.



35. ábra. 4°C-on tárolt szeletelt sertéshús második derivált spektrumok kanonikus diszkriminancia analízisének grafikus ábrázolása

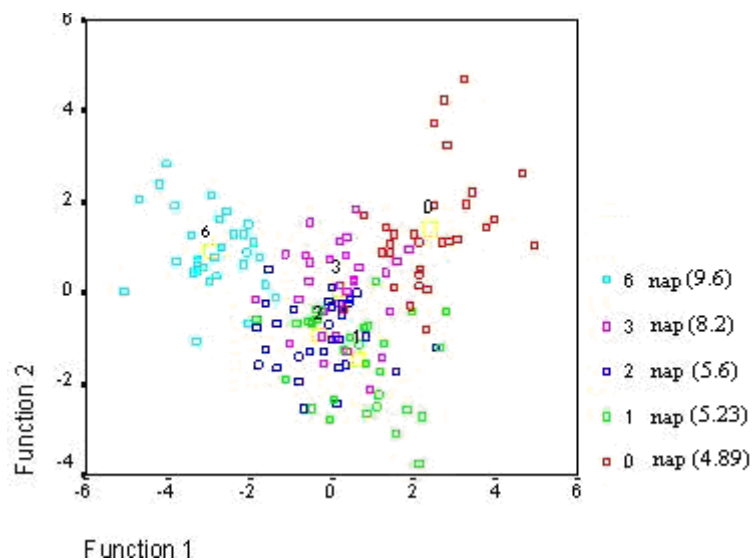
(A tárolási napok mellett zárójelben a hozzá tartozó összes élőcsíraszám átlag szerepel)

9. táblázat. 4°C-on tárolt szeletelt sertéshús diszkriminancia analízisének tévesztési mátrixa

		Számított csoportba tartozás			Összes
		0	3	6	
Eredeti	%	0	0	0	100
	0	100	0	0	100
	3	0	100	0	100
Kereszt-validált	%	0	6.7	26.7	100
	3	6.7	73.3	20	100
	6	26.7	20	53.3	100

100.0% az eredetileg csoportosított minták helyes besorolása

64.4% a kereszt-validált minták helyes besorolása



36. ábra. 8°C-on tárolt szeletelt sertéshús második derivált spektrumok kanonikus diszkriminancia analízisének grafikus ábrázolása

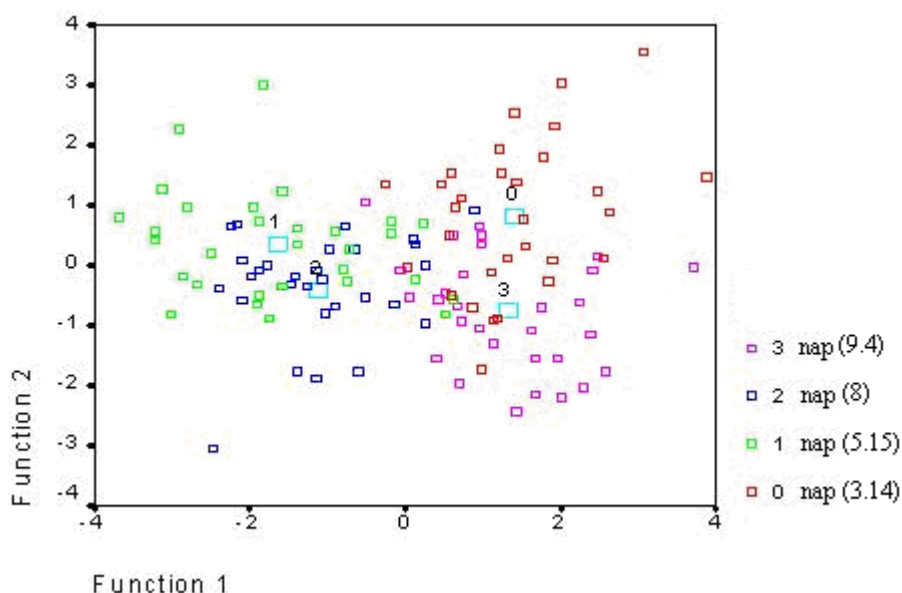
(A tárolási napok mellett zárójelben a hozzá tartozó összes élőcsíraszám átlag szerepel)

10. táblázat. 8°C-on tárolt szeletelt sertéshús diszkriminancia analízisének tévesztési mátrixa

		Számított csoportba tartozás					Összes
		0	1	2	3	6	
Eredeti	%	0	1	2	3	6	
	0	76.7	10	0	13.3	0	100
	1	3.3	70	10	13.3	3.3	100
	2	0	9.4	84.4	6.3	0	100
	3	6.7	13.3	6.7	70	3.3	100
6	0	0	0	3.3	96.7	100	
Kereszt-validált	%	0	1	2	3	6	
	0	56.7	20	6.7	16.7	0	100
	1	13.3	26.7	26.7	23.3	10	100
	2	3.1	18.8	59.4	12.5	6.3	100
	3	16.7	30	13.3	30	10	100
6	0	3.3	3.3	3.3	90	100	

79.6% az eredetileg csoportosított minták helyes besorolása

52.6% a kereszt-validált minták helyes besorolása



37. ábra. 12°C-on tárolt szeletelt sertéshús második derivált spektrumok kanonikus diszkriminancia analízisének grafikus ábrázolása

(A tárolási napok mellett zárójelben a hozzá tartozó összes élőcsíraszám átlag szerepel)

11. táblázat. 12°C-on tárolt szeletelt sertéshús diszkriminancia analízisének tévesztési mátrixa

		Számított csoportba tartozás				Összes
		0	1	2	3	
Eredeti	%					
	0	66.7	0	3.3	30	100
	1	3.3	73.3	16.7	6.7	100
	2	3.3	13.3	80	3.3	100
Kereszt-validált	%					
	0	43.3	6.7	10	40	100
	1	10	60	23.3	6.7	100
	2	10	23.3	60	6.7	100
	3	33.3	10	16.7	40	100

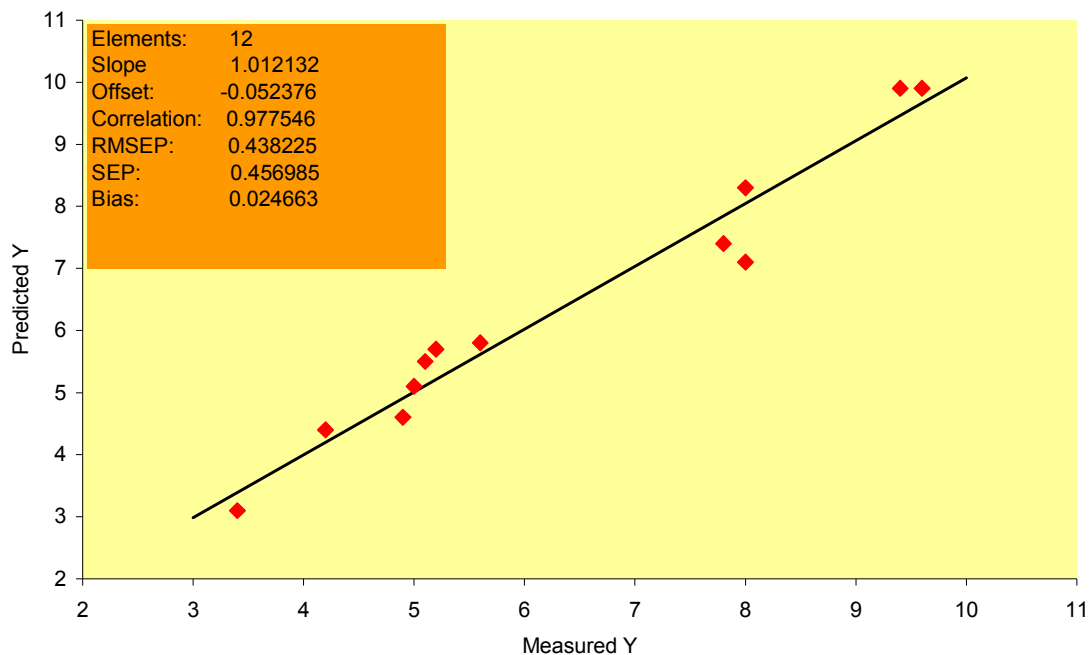
75.8% az eredetileg csoportosított minták helyes besorolása

50.8% a kereszt-validált minták helyes besorolása

A 4 °C-os tárolás esetén a helyesen visszahelyezett minták százaléka 64,4%, a 8°C-os tárolásnál ez 52,6%, 12°C-nál pedig 50,8%.

A vizsgált húsminták második derivált spektrumainak és az aerob összes élőcsíraszámának a kapcsolatát részleges legkisebb négyzetek (PLS) módszerével modelleztem (38. ábra). A modellezéshez mindhárom hőmérsékleten tárolt minták átlag spektrumait használtam fel. A

korrelációs koefficiens 0,997 és a szabadsági fokkal korrigált predikciós hiba (RMSEP) 0,438 log KKE/g volt.



38. ábra. Kalibrációs egyenes NIR prediktív és mért aerob összes élőcsíraszám között szeletelt sertéskaraj esetében

McGlone és társai (2005) juhhús érését követték nyomon infravörös spektroszkópiás méréssel. Vizsgálataikat 400-1700 nm között végezték, de a statisztikai értékeléshez már csak a 600-1360 nm közötti tartományt alkalmazták, mert a tartományon kívül eső hullámhosszoknál az infravörös sugárzás transzmissziója kismértékű volt. Az általam mért szeletelt sertéshús esetében a tartomány, amelyben a mérések történtek 1000-2500 nm között volt. Az említett szakirodalomhoz hasonlóan a feldolgozáshoz már szintén egy csökkentett hullámhossztartományt használtam fel (1000-1800 nm), mert ezeken az értékeken kívül a spektrumok zajosak voltak. Juhhús esetében a közeli infravörös spektroszkópiás mérési módszer alkalmasnak bizonyult az érési folyamat nyomon követésére.

Andrés és társai (2008) 4°C-on 14 napig marhahúst vizsgáltak vákuumsomagolás alkalmazása mellett. Az általuk tárolt marhahús PCA statisztikai értékelésének az első két főkomponense mindösszesen a variancia 71%-át írta le, és nem találtak szignifikáns eltérést a tárolási napok között. Ellentétben az én vizsgálataimmal, ahol 4°C-on aerob körülmények között tárolt szeletelt sertés hús esetében az első két főkomponens a varianciák 91%-át írta le. A különbség adódhat a különböző hús típusok és az eltérő tárolási mód és a szélesebb spektrumtartomány miatt is.

Lin és társai (2004) aerob körülmények között 21°C-on tároltak csirke húst 24 órán keresztül. Vizsgálataik kiterjedtek a mikrobiológiai változásokra is. A közeli infravörös spektroszkópiás méréseken kívül aerob összes élőcsíraszám értéket is meghatároztak, amelyet a későbbiekben referencia adatként használtak fel, ugyanúgy, mint ahogy ezt én is tettem. A vizsgálataimból levont következtetések hasonlóak voltak, mint Lin és társainak.

A PLS kalibrálás az ő esetükben alkalmasnak minősült a 8 óránál régebb óta tárolt minták elkülönítésére a 0. órához viszonyítva. A korrelációs koefficiensük 0.91 és a standard hibájuk 0.48 logKKE/g.

Ezek az értékek az általam vizsgált szeletelt sertéshús eredményektől kis mértékben térnek el. A korrelációs koefficiens az én esetemben 0.977 és a standard hiba is csak 0.45 logKKE/g volt.

Az elkülönítés a tárolt húsmintákban a csirke hús esetében már abban az esetben bekövetkezett, amikor a bakteriális növekedés még kisebb volt, mint 1 log egység, ez az érték a sertés hús esetében 2 log egység volt. (HORVÁTH et al. 2008)

Mindezek a szakirodalmak is alátámasztják, hogy a NIR alkalmas a hús baktériumos romlás nyomon követésére. Az érzékelés már jóval azelőtt megtörténik sertéshús esetén, mielőtt a romlás érzékszervileg detektálható lenne. A vizsgálatok alapján elmondható, hogy a NIR alkalmas szeletelt sertéshús esetén a minőség felmérésre.

5.2. Darált sertéshús baktériumos romlásának nyomonkövetése

5.2.1. Mikrobiológiai vizsgálatok

Méréseimet darált sertés lapockával végeztem. A műanyag petricsészéket színültig töltöttem darált sertéshússal és parafilmmel lefedtem. Ennek következtében ennél a tárolási kísérleteknél mérsékleten aerob körülmények érvényesült. Ezért arra lehetett számítani, hogy ez a mikrobák szaporodását is befolyásolja. A tárolás szintén hűtött körülmények között zajlott, a hőmérséklet ezeknél a kísérleteknél 4°C volt. A mérsékleten aerob csomagolásra tekintettel tárolás közben az összes élőcsíraszámom és a *Pseudomonas* számon kívül nyomon követtem a *Lactobacillus* és *Brochotrix thermosphacta* változását is. A mikrobiológiai eredmények közül egy jellegzetes kísérlet eredményét választottam ki, amelyet a **14. táblázat** foglal össze pH értékekkel és érzékszervi megfigyelésekkel egyetemben. A **14. táblázatban** összefoglalóan a 3 párhuzamos mikrobiológiai vizsgálat átlagértékei, zárójelben pedig a standard hiba látható.

14. táblázat. 4°C-on tárolt darált szeletelt sertéslapocka mikrobiológiai eredményeinek és érzékszervi megfigyeléseinek összesítése

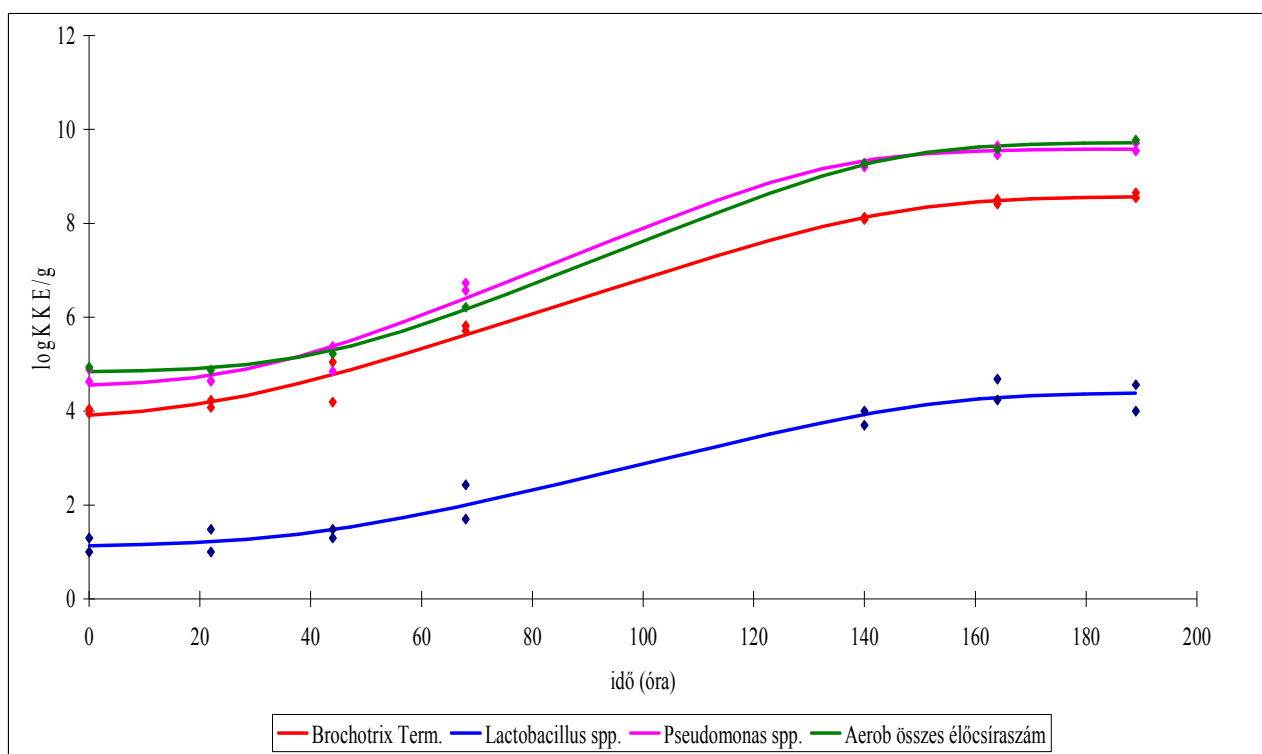
idő (óra)	Aerob összes élőcsíraszám (logKKE/g)	<i>Lactobacillus</i> (logKKE/g)	<i>Pseudomonas</i> (logKKE/g)	<i>Broch. therm.</i> (log KKE/g)	pH	Érzékszervi megfigyelés
0	4.9 (0.30)	1.1 (0.21)	4.8 (0.18)	4 (0.06)	5.6	A hús, halvány rózsaszínű, friss hús illatú, tetszetős, állománya eléggé puha, vizes jellegű
22	4.9 (0.23)	1.2 (0.34)	4.6 (0.00)	4.2 (0.11)	5.6	Gyenge hús illat, kissé véres folyadékfilm képződött
44	5.2 (0.20)	1.4 (0.13)	5.1 (0.37)	4.6 (0.60)	5.6	"Semleges" illat, folyadékfilm képződött, a minta enyhén összeesett
68	6.2 (0.11)	2.1 (0.52)	6.7 (0.11)	5.8 (0.08)	5.7	"Semleges" illat, a hús barnás árnyalatú, folyadékfilm képződött
140	9.2 (0.00)	3.8 (0.21)	9.2 (0.06)	8.1 (0.04)	5.8	Semleges illat, barnás színű hús, állománya gumyszerű, folyadékfilm képződött, benne baktérium növekedés látható.
164	9.6 (0.10)	4.5 (0.31)	9.6 (0.13)	8.5 (0.07)	5.9	„Állott” illat, barnás színű hús, állománya gumi szerű, folyadék film képződött, a felületen és a folyadék filmben baktérium növekedés látható.
189	9.8 (0.01)	4.3 (0.40)	9.6 (0.12)	8.6 (0.08)	5.9	„Állott” illat, barnás színű hús, állománya gumi szerű, folyadék film képződött, a felületen és a folyadék filmben baktérium növekedés látható, nyálkásodás és baktérium növekedés a felületen.

A tárolási mód változása miatt várható lett volna, hogy *Brochotrix thermosphacta* kisebb oxigén koncentráció mellett jobban érvényesül, de ebben az esetben a pszeudomonaszokkal nem tudtak versenyezni.

A *Lactobacillusok*-ról bebizonyosodott, hogy az adott tárolási hőmérséklet és csomagolási körülményeknek kitett nyersanyag vonatkozásában a kezdeti csíraszámuk alacsonyabb volt, mint a *Pseudomonas* spp. és a *Brochotrix thermosphacta* csíraszámai. A laktobacillusok szaporodásánál egy lassabb ütem figyelhető meg, mint a pszeudomonaszok és *brochotrix*-ok esetében. Szaporodásuk nem változott olyan ütemben, mint ahogy ezt az „anaerob” csomagolás esetén várható lett volna. Ezzel összhangban a pH változás sem volt olyan nagymértékű, mely kapcsolatban van a specifikus romlási mikrobióta proteolitikus tulajdonságával.

Az érzékszervi megfigyeléseknél az egyik jellegzetes változás a 2. napon (44. óra) volt észlelhető, mert ekkorra a darált sertéshús összeesett és állománya enyhén gumis jellegűvé vált. Erre magyarázat lehet az, hogy a lapocka darálása közben levegő keveredett a húsba és ennek egy része távozott a tárolás során.

A ComBase nemzetközi adatbázis DmFit szoftverje segítségével dolgoztam fel az adatokat, amivel mikroorganizmusok szaporodáskinetikai jellemzőire tudtam következtetni. A darált sertéslapocka kísérletsorozatoknál teljesen hasonló volt a mikroorganizmusok szaporodása, mint a szeletelt sertéskaraj esetében, ezért csak egy kísérletre vonatkozó szaporodási görbét mutatok be, amelyet a **39. ábra** szemléltet.



39. ábra. Darált sertéslapocka 4°C-os tárolása közben alakuló mikroorganizmusok szaporodási görbéi

A DmFit program által illesztett szaporodási görbe jellemzőket az aerob összes élőcsíraszámra, *Pseudomonas*-ra, *Lactobacillus*-ra és *Brochotrix thermosphacta*-ra vonatkozó adatokat a **15. táblázat** tartalmazza.

15. táblázat. Darált sertéslapocka 4°C-os tárolása során kapott szaporodási görbe illesztések jellemzői

Mikroorganizmusok	kezdeti élő csíraszám (log ₁₀)	lag fázis (lag(óra))	szaporodási sebesség (rate(logKKE/óra))	végző élő csíraszám (log ₁₀ ed)
Aerob összes élő csíraszám	4.84	40.9	0.047	9.52
<i>Pseudomonas</i> spp.	4.55	29.5	0.047	9.58
<i>Brochotrix thermosphacta</i>	3.91	23.6	0.038	8.58
<i>Lactobacillus</i> spp.	1.13	39.6	0.028	4.39

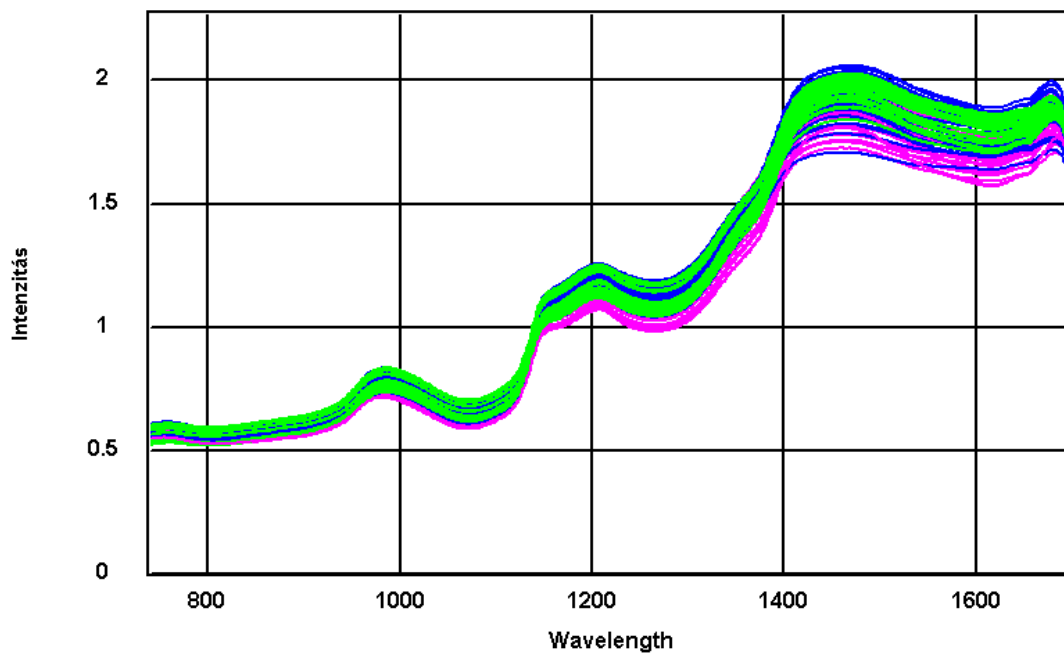
A 15. táblázatban szereplő szaporodási-sebesség (0.028 logKKE/óra) is azt támasztja alá, hogy a *Lactobacillus* kezdeti csíraszám alacsony volt, később is csak lassan emelkedett. Ugyanebben a táblázatban figyelhető meg az is, hogy a *Pseudomonas* alacsony kezdeti csíraszám értéke ellenére a tárolás végére dominánssá vált, amelyet elősegített a lag fázis rövidebb ideje is.

Összefoglalásként elmondható, hogy a darált sertéshús mikrobiológiai eredményei a szeletelt sertéskarajéhoz hasonlóak voltak. Így ebben az esetben is a *Pseudomonas* nemzetség volt a fő romlást okozó mikroorganizmus. Vizsgálataim kiterjedtek a *Lactobacillus* és a *Brochotrix thermosphacta* meghatározására is. Az elvártakkal ellentétben egyik sem vált uralkodóvá és nyomta el a *Pseudomonas*-t. Magyarázat lehet az, hogy a darálás közben levegőt kevertünk a húsba, amely inkább aerob körülményt alakított ki. Ezt támasztja alá az is, hogy a tárolás első napjaiban a minták állaga, állománya megváltozott, összeesett és gumyszerűvé vált.

5.2.2. Közeli infravörös spektroszkópiás mérések darált sertéshús romlásának gyors becslésére

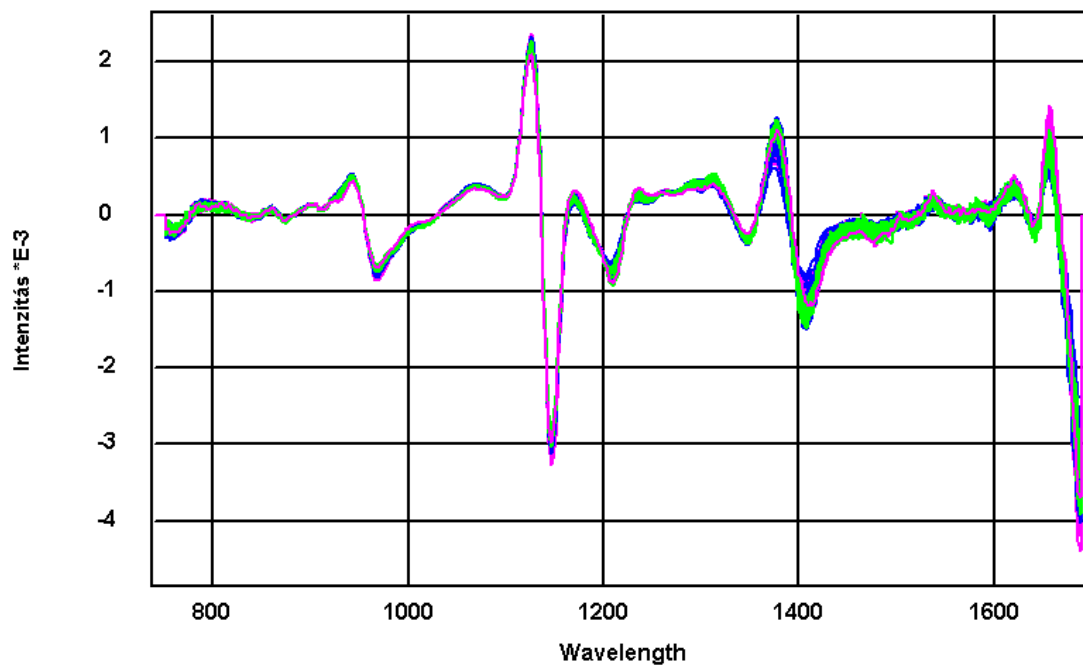
A darált sertés lapockát a METRINIR 10-17 ST készülékkel mértem. A tároláshoz és a mérésekhez egyaránt 5,5 cm átmérőjű műanyag steril petricsészékbe helyeztem a húst és színültig töltöttem. Azért, hogy a tárolás közben bekövetkező kiszáradást gátoljam, parafilmmel zártam le egyenként a műanyag petricsészéket. A közeli infravörös spektrumokat 700-1700 nm között 2 nm spektrum kaputávolsággal vettem fel. A méréseket szobahőmérsékleten végeztem (5-5 mintát 6 ismétléssel mértem meg).

A szeletelt sertéskaraj mintájára itt is először a hús simított NIR spektrumait ábrázolom 700-1700 nm-es hullámhossz tartományban (**40. ábra**).



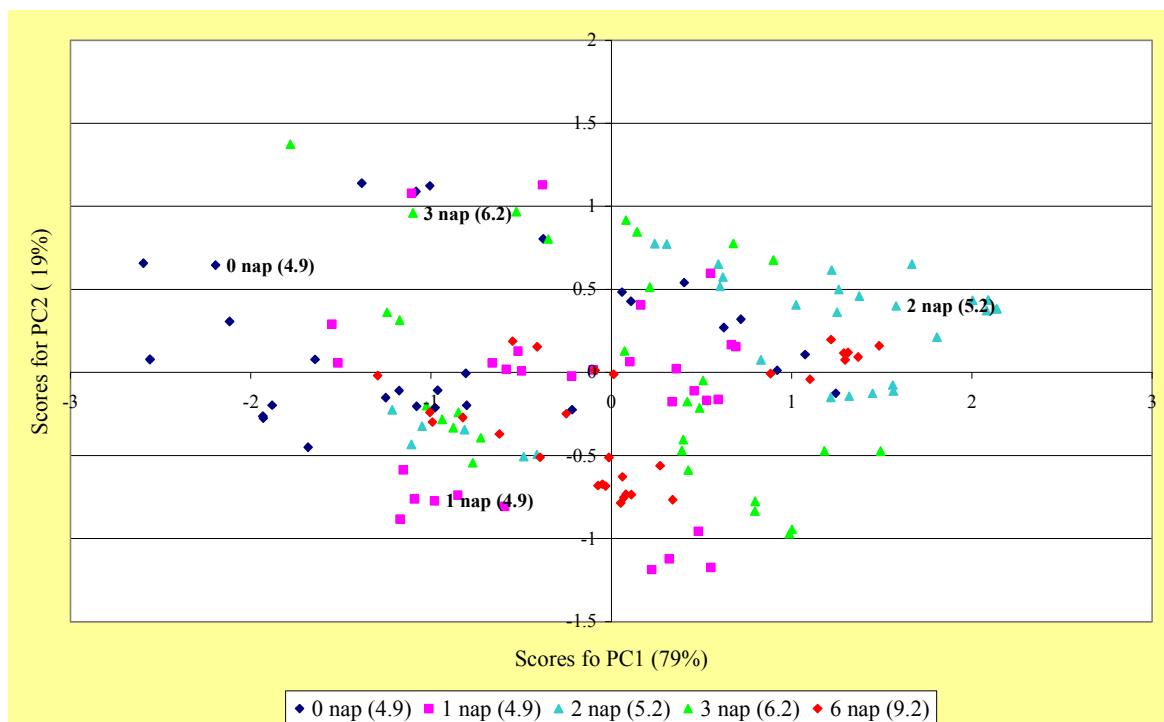
40. ábra. 4°C-on tárolt darált sertés lapocka jellegzetes „simított” alapspektruma
($\log(1/R)$ 700-1700 nm-ig)

A második derivált spektrumokat a **41. ábra** szemlélteti. A darált sertés lapocka esetében is csak egy csökkentett hullámhossz-tartományt használtam a matematikai-statisztikai értékelésekhez, mert 800 nm alatt és 1400 nm felett a zaj elfedte a jellegzetes spektrumokat, melyet a simított, második derivált spektrumok is jól mutatnak.



41. ábra. 4°C-on tárolt darált sertés lapocka simított, 2. derivált spektrumai (700-1700 nm-ig)

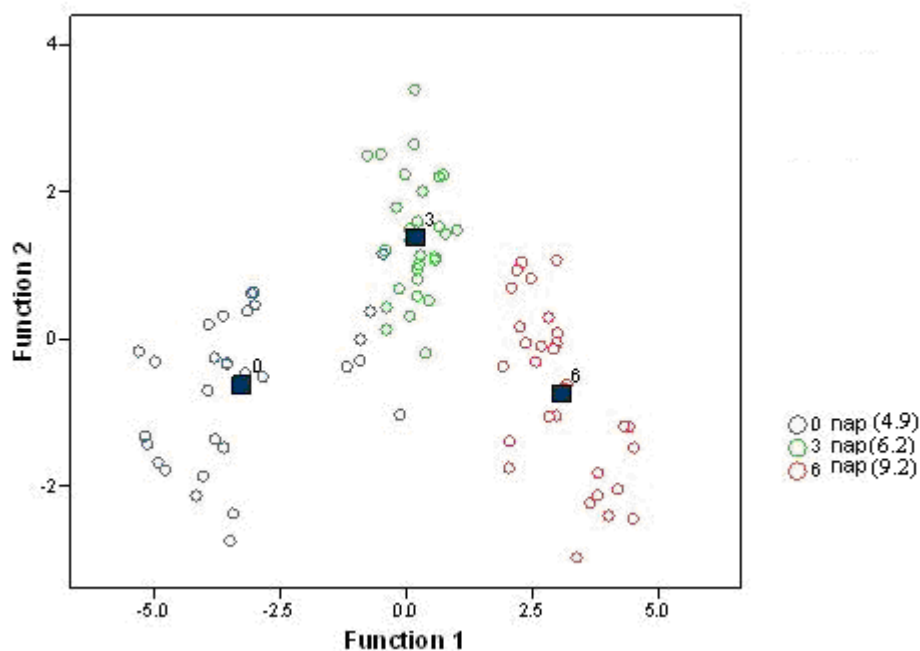
Főkomponens analízis vizsgálatot végeztem a 4°C-on tárolt darált sertés lapocka második derivált spektrumaira 800-1400 nm közötti tartományban (**42. ábra**). A **42. ábrán** megfigyelhető, hogy az első két főkomponens a varianciák 98%-át írja le.



42. ábra. A vizsgált darált sertéshús minták minőségpontjainak elhelyezkedése az első és második a főkomponens által meghatározott vetítési síkon „score plot”

(A grafikonon lévő számok a napokban megadott tárolási időtartamok, zárójelben pedig a hozzá tartozó összes élőcsíraszám átlag érték szerepel)

A főkomponens analízist követően a diszkriminancia analízist is alkalmaztam. Ebben az esetben a jobb átláthatóság érdekében csak a 0., 3. és a 6. vizsgálati nap adatait vettem figyelembe, amelyet a **43. ábra** mutat be.



43. ábra. 4°C-on tárolt darált sertéslapocka második derivált spektrumuk kanonikus diszkriminancia analízis eredményeinek grafikus ábrázolása
(A tárolási napok mellett zárójelben a hozzá tartozó összes élőcsíraszám átlag szerepel)

A tévesztési mátrix (**16. táblázat**) alapján megállapítható, hogy a keresztvalidált minták 93,3%-a lett helyesen besorolva.

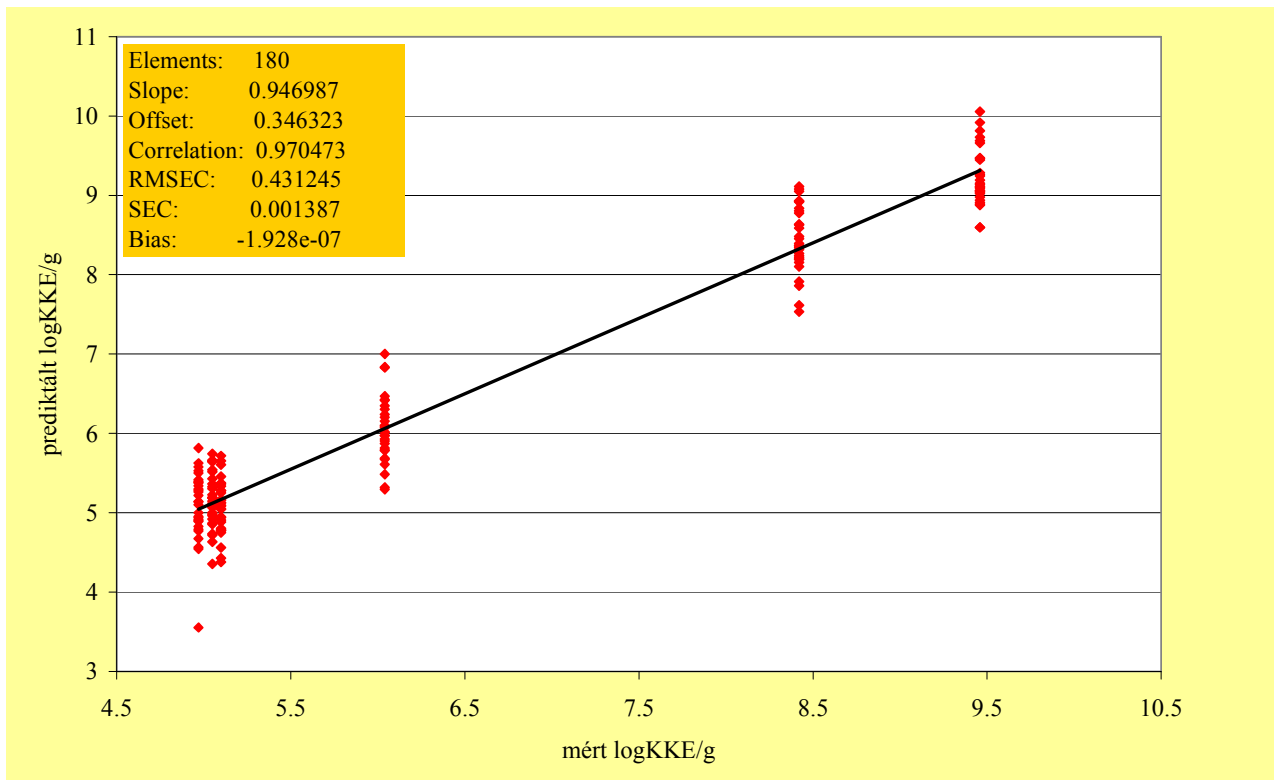
16. táblázat. 4°C-on tárolt darált sertéslapocka diszkriminancia analízisének tévesztési mátrixa

		nap	Számított csoportba tartozás			Összes
			0	3	6	
Eredeti	Szám	0	25	5	0	30
		3	0	30	0	30
		6	0	0	30	30
	%	0	83.3	16.7	.0	100.0
		3	.0	100.0	.0	100.0
		6	.0	.0	100.0	100.0
Kereszt-validált	Szám	0	24	6	0	30
		3	0	30	0	30
		6	0	0	30	30
	%	0	80.0	20.0	.0	100.0
		3	.0	100.0	.0	100.0
		6	.0	.0	100.0	100.0

94.4% az eredetileg csoportosított minták helyes besorolása

93.3% a kereszt-validált minták helyes besorolása

A kvantitatív módszerek közül a részleges legkisebb négyzetek módszerével (PLS) folytattam a kiértékelést, amelyhez referencia adatként a mikrobiológiai vizsgálatok eredményeit használtam fel. Az így kapott eredményt az **44. ábra** szemlélteti. 0,970-es korrelációs koefficiens-t állapítottam meg a NIR spektrum adatok és a mért aerob összes élőcsíraszám között, és a szabadsági fokkal korrigált predikciós hiba (RMSEP) 0,430 logKKE/g volt.



44. ábra. 4°C-on tárolt darált sertéshús minták aerob összes élő csíraszám PLS kalibráció által a 700-1700nm tartományban rögzített második derivált spektrumok alapján becsült értékei a referencia értékek függvényében

A 4°C-os darált lapocka tárolása esetén teljesen hasonlóak lettek az eredmények, mint a szeletelt sertéshús esetében. A főkomponens analízis első két főkomponense ebben az esetben a varianciák 98%-át írták le. A PLS kalibrálás 0.97-es korrelációt mutatott és a RMSEP sem változott, 0.43 log KKE/g lett.

Így összefoglalásként elmondható, hogy a darált sertéshús esetében is jól alkalmazható volt a közeli infravörös spektroszkópia a frissesség nyomon követésére, a frissesség csökkenés, a baktérium szaporodás gyors és roncsolás-mentes kimutatására még mielőtt a mikrobiológiai romlás érzékszervileg érzékelhető lenne.

A módszer előnye, hogy a vizsgálat gyors és roncsolás-mentes, a mérés időigénye igen kevés, a minta állapotáról szinte azonnal információt kapunk, a vizsgálandó minta előkészítése igen egyszerű, akár helyben is elvégezhető.

6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Vizsgálataimmal alátámasztottam, hogy a hűtve tárolt szeletelt és darált sertéshús romlását mind aerob, mind pedig mérsékelten aerob tárolási körülmények között elsősorban a *Pseudomonas* nemzetség okozza, ezért szelektív táptalajon képződő kolónia száma szorosabb korrelációt mutat a detekciós idővel, mint az aerob összes élőcsíraszám. A sertéshús 4 és 8°C-os tárolása alatt bekövetkezett mikrobiológiai változások hasonlóak, míg a 12°C-on a romlást már eltérő, heterogénebb mikrobióta okozza.
2. Bebizonyítottam, hogy a hagyományos lemezöntéses kolóniaszámláláshoz szükséges 72 órás inkubációs időhöz viszonyítottnak, a Malthus készülék szeletelt sertéshús esetén az EU által követelt higiéniai szint megítéléséhez (10^4 KKE/g), 12-13 óra, míg a mikrobiológiai elfogadhatóság határának (10^7 KKE/g) megállapításához 7-8 óra elegendő.
3. Kísérleteimmal igazoltam, hogy az elektronikus orr szeletelt sertéshús esetében alkalmas a romlást okozó baktériumok nagymérvű elszaporodásának jelzésére, már az érzékszervileg észlelhető mikrobiológiai romlás előtt. Szeletelt sertéskaraj esetében az NST 3320-as típusú készülék 23 szenzorja helyett 9 szenzor is elegendő erre a feladatra.
4. Megállapítottam, hogy a közeli infravörös spektroszkópia szeletelt és darált sertéshús esetében a baktérium szaporodás gyors és roncsolás-mentes kimutatására jóval azelőtt képes, hogy a romlás érzékszervileg detektálható lenne.

7. ÖSSZEFOGLALÁS ÉS KÖVETKEZTETÉS

Bevezetés:

Napjainkban a húsfeldolgozás-és forgalmazás élelmiszerbiztonsági szempontból az egyik legkockázatosabb része az élelmiszerláncnak. Az eltarthatósági idő és a biztonságos fogyaszthatóság szempontjából elkerülhetetlenek a mikrobiológiai vizsgálatok. A hatékony ellenőrzés érdekében a húsipari vállalatoktól és forgalmazóktól megkövetelik a gyors, egyszerű, de szakszerű vizsgálati módszereket. A hagyományos mikrobiológiai vizsgálatok idő- és munkaigényesek. A legtöbb esetben 48-72 órát kell várni az eredményekre, így egyre nagyobb igény mutatkozik a gyors, roncsolás-mentes vizsgálati módszerekre.

Célkitűzés:

Céлом volt, hogy több, gyors, fizikai és automatizálható módszer kialakításának lehetőségét vizsgáljam meg, annak érdekében, hogy az élelmiszeriparban ellenőrzés céljából megjelenő nagyszámú élelmiszeripari termék vizsgálata egyszerűsödjön.

Ennek érdekében vizsgálatokat folytattam az impedimetriás elven működő Malthus készülékkel, hogy alkalmazható-e hűtött körülmények között tárolt sertéshúsok baktériumos élőcsíraszámának gyors meghatározására.

Ezek után kísérleteket végeztem elektronikus szenzor sor segítségével, hogy megállapítsam, a módszer alkalmas-e a sertéshús bakteriológiai minőség-változásának nyomon követésére.

Méréseimet közeli infravörös spektroszkópiai módszerrel folytattam, hogy megvizsgáljam, használható-e frissesség megszűnésének detektálására és/vagy a baktérium szaporodás gyors és roncsolás-mentes kimutatására hűtve tárolt sertéshús esetében.

Anyag és módszer:

A vizsgálati anyagok:

1. Szeletelt sertéskarajt tároltam 4, 8, 12 °C-on hűtött körülmények között steril műanyag petricsészében aerob körülményt biztosítva. A húst a zsírszövetektől és inaktól letisztítottam. A 4°C-on tárolt szeletelt sertéskaraj 11 napig, 8°C-os 6 napig és végül a 12°C-os már csak 3 napig volt eltartható. A vizsgálatokat 4°C-os tárolás esetén 0., 1., 3., 6., 8., 10. napokon végeztem. A tárolási hőmérséklet emelkedésével a mintavételek gyakorisága is nőtt. A 8°C-os hőmérséklet esetén 0., 1., 2., 3., 6. napokon történtek a mérések. Az 1., 2. és 3. napon délelőtt és délután is vizsgáltam a mintákat és ugyanígy tettem a 12°C-os tárolás esetében is.
2. A darált sertéslapockát 4 °C-on tároltam mérsékelt aerob tárolási körülmények között, a műanyag petricsészéket a hússal teljesen megtöltve. A tárolás idő és a mintavételezés a szeletelt sertéskaraj 4°C-os tárolásával volt megegyező.

Vizsgálati módszerek:

1. A mikrobiológiai mérések szeletelt sertés karaj esetében kiterjedtek az aerob összes élőcsiaszámra és *Pseudomonas* számra, darált sertéslapocka esetében pedig az előbb említetteken kívül *Brochotrix thermosphacta* és *Lactobacillus* spp. szám meghatározására is. A vizsgálatokhoz hagyományos lemezöntéses technikát alkalmaztam, a szeletelt sertéshús és a darált sertéshús vizsgálatoknál egyaránt.
2. Szeletelt sertéshús esetében az impedimetriás mérésekhez Malthus készüléket alkalmaztam.
3. Az elektronikus orr méréseket szeletelt sertéshús minták esetében Applied Sensor Technology NST 3320 készülékkel végeztem.
4. A közeli infravörös spektroszkópiás mérések szeletelt sertéskaraj esetében a PMS – Spectralyzer 1025-ös, darált lapockánál pedig MetriNir 10-17 ST készülékkel végeztem.
5. Az eredmények kiértékeléséhez a statisztikai módszerek közül főkomponens analízist, diszkriminancia analízist és PLS regressziót alkalmaztam.

Eredmények:

Mikrobiológiai vizsgálatok:

Vizsgálataim igazolták, hogy a hűtött, aerob és mérsékelt aerob körülmények között tárolt szeletelt és darált sertéshús fő romlást okozó baktériumai a pszichotróf Gram-negatív *Pseudomonas* nemzetséghez tartoznak.

A méréseim alapján elmondható, hogy a *Pseudomonas* nemzetség meghatározáshoz jól alkalmazható táptalaj a GSP.

A darált sertéshús esetében a várakozással ellentétben sem a *Lactobacillus* sem pedig a *Brochothrix thermosphacta* nem nyomta el a *Pseudomonas* spp.-t. Erre magyarázatul szolgálhat az, hogy a sertéslapocka darálása közben levegőt is keverhettünk a húshoz, amely ezáltal inkább aerob, mint sem anaerob körülményt alakított ki.

Impedimetriás vizsgálatok:

A Malthus készülék egyik előnye, hogy gyorsabb a hagyományos telepszámlálási módszernél. A másik, hogy a mintatartóinak száma 60, így a nagy mintaelem szám egyszerre történő vizsgálata egyszerűbb és kevésbé időigényes. A Malthus készülék előnye még, hogy nem befolyásolja a zavaros vagy nem átlátszó minta. Ezzel a módszerrel az EU higiéniai követelményszintjének megítéléséhez, amely 10^4 KKE/g, 12-13 óra elegendő, viszont a mikrobiológiai elfogadhatóság határának (10^7 KKE/g) megállapítása már 7-8 óra alatt megtörténhet.

Elektronikus orr mérések:

Az elektronikus orr alkalmas a minták illóanyagainak gyors detektálására sertéshús esetén.

A vizsgálatok szerint kb. 10^7 KKE/g élőcsíraszám-szinttől kezdve az elektronikus orr jelválasza lineáris korrelációt mutatott a növekvő baktérium-számmal.

A szenzorok jelválaszait megvizsgálva, azt a következtetést lehet levonni, hogy kevesebb szenzort tartalmazó elektronikus orr is alkalmas lehet a vizsgálatok elvégzésére. Ezt támasztja alá, hogy kísérleteim értékelése során a kevésbé érzékeny szenzorokat kihagytam a statisztikai értékelésekből és a korrelációs koefficiens érték ennek ellenére alig változott. Így a 23 szenzor helyett 9 szenzor elegendő volt a vizsgálatokhoz.

A kísérletem eredményeiből arra lehet következtetni, hogy az elektronikus orr és a korszerű statisztikai eljárások kombinációja alkalmas lehet a frissesség csökkenés és a baktérium szaporodás

gyors és roncsolás-mentes kimutatására, mielőtt még érzékszervileg érzékelhető lenne a mikrobiológiai romlás.

Az elektronikus orr esetében a kevesebb szenzort tartalmazó műszer lehetőséget ígér arra, hogy ez a vizsgálati eljárás alkalmazható legyen az élelmiszer-kereskedelemben egy könnyen és egyszerűen használható „szűrőberendezésként” is.

Közeli infravörös spektroszkópiás mérések:

A közeli infravörös spektroszkópiás módszer lehetőséget biztosít élelmiszeripari termékek, azon belül is a szeletelt és a darált sertéshús mikrobiológiai minőségének a mérésére. A sertéshús mikrobiológiai vizsgálatának és az érzékszervi megfigyelésének eredményeiből levonható az a következtetés, hogy 10^6 KKE/g-nál még nincs, vagy alig tapasztalható érzékszervi (szín, szag, állomány) változás.

A NIR azonban már ennél jóval kisebb csíraszámnál jelzi a minőségváltozást a termékben.

Ezek a kísérletek arra engednek következtetni, hogy a NIR reflexiós spektroszkópia is alkalmas lehet a frissesség csökkenés és a baktérium szaporodás gyors és roncsolás-mentes kimutatására, azelőtt, hogy érzékszervileg érzékelhető lenne a mikrobiológiai romlás.

A minta előkészítési idő minimálisra csökken, így megfelelő célműszerrel akár a helyszínen is elvégezhetővé válhatnak a vizsgálatok. A standard mikrobiológiai módszerekhez képest az ellenőrzési/vizsgálati idő lényegesen lecsökkenthetővé válhat.

Következtetések:

A doktori disszertációm célkitűzései arra irányultak, hogy több gyors és automatizálható rendszer kialakításának lehetőségét vizsgáljam meg.

Az általam alkalmazott módszerek korrelatívak, kalibrációt igényelnek, de utána mindegyikről elmondható, hogy vizsgálati ideje rövidebb, mint a hagyományos telepszámlálási módszeré, és sok minta ellenőrzésére alkalmasak.

A mérések kiértékeléséhez és az eredmények megértéséhez elengedhetetlen a kemometriai statisztikai eljárások alkalmazása is, így a disszertációmban leírt műszeres vizsgálatok a kemometriás módszerekkel együtt alkalmazhatóak megfelelően.

A vizsgálataim alátámasztották, hogy a disszertációmban felhasznált műszeres vizsgálati módszerek alkalmasak a szeletelt és a darált sertéshús tárolása közben bekövetkező változások nyomkövetésére.

Javaslatok:

Az elektornikus orr kevésbé volt érzékeny, mint a közeli infravörös spektroszkópia, így az elektronikus orr inkább a kialakuló romlás jellemzésére alkalmas, a NIR pedig az élősíraszám követésére is lehetőséget nyújthat.

Doktori munkám keretében tájékozódó kísérletekre volt lehetőségem a műszeres vizsgálatok esetében. Az elektronikus orr és a NIR eredmények is biztatóak arra nézve, hogy ezekkel a módszerekkel rutinszerű ellenőrzések is elvégezhetőek az élelmiszeripar számos területén. A gyorsmódszerek más-más alapon működnek, így a vizsgálatok megbízhatóságát növelné többféle módszer együttes használata.

A gyakorlati alkalmazáshoz, és a statisztikai eredmények megbízhatóságának növeléséhez elengedhetetlen, még több hasonló vizsgálat, amelyek után hordozható/online eszközök kidolgozása is lehetséges lenne, amely még nem szerepelt doktori munkám céljai között.

8. SUMMARY AND CONCLUSION

Introduction:

There is general need for less labour intensive, rapid and reliable methods for monitoring microbiological quality in the food chain to identify hygienic and safety problems more rapidly, so that corrective actions can be taken.

In relation to meat and meat products, issues both of microbiological safety and shelf-life are concerned, and temperature is one of the major factors in them.

Aim of work:

My intention was to study the potential for assessing a relatively rapid, physical and automated screening technique for simultaneous estimation of microbiological status of large numbers of samples for monitoring spoilage bacteria on chilled pork cutlets.

My aim was to study the utility of conductometric method to follow bacteriological deterioration of pork during storage.

My objective was to study the utility of chemo sensor array signals of head-space volatiles of aerobically packed pork cutlets as a non-invasive technique to estimate development of bacterial spoilage at various storage temperatures.

I intended to study the utility of near infrared spectroscopy as a non-invasive technique to follow bacterial deterioration of pork during storage.

Materials and methods:

Materials:

1. Slices of fresh cutlets of de-boned pork were transferred to sterile petri-dishes and experimental batches of these samples were stored under aerobic conditions at 4, 8, and 12 °C temperatures, respectively.
2. Minced pork samples were transferred to sterile petri-dishes and these samples were stored under aerobic conditions at 4°C temperature.

Methods:

1. Bacteriological quality, namely standard total aerobic plate counts (TAPC) and selectively estimated *Pseudomonas* (PS) counts of pork slices were determined by pour-plate method. Besides *Pseudomonas* counts, *Brochotrix thermosphacta* and *Lactobacillus* counts were determined in the minced pork.
2. A Malthus Microbiological Analyzer was used in the examinations of pork slices.
3. A NST3320 type electronic nose was used in the examination of volatile compounds produced by bacterial spoilage of pork slices.
4. Near infrared spectra were recorded by a SPECTRALYZER 1025 PMC type NIR spectrometer in case of sliced pork, and the minced pork samples were measured by a MetriNir 10-17 type NIR spectrometer.
5. PCA, PLS, CDA chemometric methods were used for evaluating the analysed measured data.

Results:

Microbiology:

The aerobic and moderately aerobic spoilage flora of fresh sliced and minced pork stored at chill temperature was dominated by psychrotrophic aerobic, Gram-negative *Pseudomonas* spp.

GSP agar seemed to be better for our purpose than Cetrimide agar because microscopic checking of the colonies showed that the Cetrimid agar inhibited also some part of the *Pseudomonas* population.

In minced pork, *Brochotrix thermosphacta* and *Lactobcillus* counts were determined, too. Neither of them could dominate under the storage conditions applied.

Automatic conductometry:

The conductometric method seemed to be suitable to assess within 8 hours whether a sample of pork meat had cell counts higher or less than 10^7 CFU g^{-1} of psychrotrophic spoilage bacteria, whereas at least 72 h were needed to obtain the same information by colony counting techniques. The relative rapidity and its ability to process large numbers of samples makes conductometry a suitable method for monitoring microbial state and freshness of meat.

Electronic nose:

Considering the correlation between viable cell counts versus individual signal responses, linear correlation was found over $r > 0.70$ between EN responses and TAPC.

The elimination of 14 insensitive sensors, having poor information in this special application, hardly modified the efficiency parameters of the computed models.

Regarding our observations that only a few individual sensors (9 sensors) relatively high correlations with the reference data, it could be expect that construction of a cheaper, single purpose instrument with only a few sensors with significant discrimination power can be proposed for the spoilage assessment of meats.

The experiments show that electronic nose measurements may be able to reveal changes in the head-space volatiles of aerobically packed meat. The electronic nose has the advantage of being rapid, non-destructive and non-contact instrumental testing.

Near infrared spectroscopy:

In samples with bacterial counts of 10^6 CFU/g no organoleptic changes could yet be experienced. NIR spectroscopy indicated the quality changes already at this microbial state in the product.

Sample preparation time became minimal, this way examinations can even be performed on the spot.

These preliminary results indicate the potential of utilizing near infrared diffuse reflectance spectroscopy in combination with multivariate statistical methods to rapidly monitor loss of freshness and detect bacterial spoilage of meat samples before colinearity microbial changes become apparent.

Conclusion:

The objectives of my Ph.D. thesis were aimed to evaluate the opportunity of developing a rapid and automatic system.

However, the applied methods are correlative and require calibration, the observation period is shorter than in case of the standard microbiological methods, also larger numbers of samples can be tested.

The application of statistical methods is critical for understanding the results, therefore the instrumental examinations highlighted in my thesis are applicable appropriately only together with the chemometric methods.

My investigations support that rapid instrumental methods applied and described in my thesis are suitable for tracking the changes that occur during the storage of sliced and minced pork meat.

9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Doktori értekezésem elkészítéséhez nyújtott komoly és hozzáértő segítségükért ezúton is szeretnék köszönetet mondani:

Konzulensemnek Dr. Farkas Józsefnek

Opponenseimnek:

Dr. Beczner Juditnak

Dr. Kaffka Károlynak

a Budapest Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar
Hűtő és Állatitermék Technológiai Tanszék dolgozóinak,

különösképpen

Dalmadi Istvánnak

Dr. Friedrich Lászlónak

Horti Krisztinának

a Központi Élelmiszer-tudományi Kutatóintézet
Mikrobiológiai Osztály munkatársainak, köztük

Andrássy Évanak

Korbász Margitnak

és családtagjaimnak, akik mindvégig támogattak,

valamint köszönet illet mindenkit, aki segített doktori munkámban!

10. IRODALOMJEGYZÉK

- AHN D. U., NAM K. C., DU M., JO C. (2001): Volatile production in irradiated normal, pale soft exudative (PSE) and dark firm dry (DFD) pork under different packaging and storage conditions., *Meat Science*, 57 (4), 419-426. p.
- ANDRÁSSY É., FARKAS J., SEREGELY ZS., DALMADI I., TUBOLY E., LEBOVICS V. (2006): Changes of hen eggs and their components caused by non-thermal pasteurization treatments *Acta Alimentaria*, 35 (3), 305-318.p.
- ANDRÉS S., SILVA S., SOARES-PEREIRA, MARTINS C., BRUNO-SOARES, MURRAY I. (2008): The use of visible and near infrared reflectance spectroscopy to predict beef *M. longissimus thoracis et lumborum* quality attributes, *Meat Science*, 78, 217-224
- ANON (1990): Developments in the chilled food market – in: *Food processing* by FFPS
- ANON (2003): World Food Regulation Review, 1
- ARNOTT M.L (1993): Impedance microbiology in food quality control. In: *Instrumentation and Sensors for the Food Industry* Butterworth Heimann, Oxford, 499-519. p.
- BARANYI J., ROBERTS T. A. (2003): ComBase: A Common Database on Microbial Responses to Food Environments, *Journal of Food Protection*, 67., 1967-1971. p.
- BARANYI J., TAMPLIN M. (1994): A dynamic approach to predicting bacterial growth in food, *Journal of Food Microbiol*, 23., 277-294. p.
- BARANYI J., ROBERTS T. A. (1995): Mathematics of predictive microbiology, *Journal Food Microbiol.*, 26., 199-218. p.
- BARBRI N. EL, LLOBET E., BARI N. EL, CORREIG X., BOUCHIKHI B. (2008): Application of a portable electronic nose system to assess the freshness of Moroccan sardines, *Materials Science and Engineering*, 28 (5-6), 666-670. p.
- BARBUT S. (1996): Estimates and detection of the PSE problem in young turkey breast meat, *Canadian Journal of Animal Science* 76, 455–457. p
- BARLETT P.N., BLAIR N., GARDNER J.W. (1993): Electronic nose, Principles, applications and outlook, ASIC 15e Colloque, Montpellier, 478-486. p.
- BECZNER J., FARKAS J., HORVÁTH K. (2004): Használati tapasztalatok nemzetközi prediktív mikrobiológiai szoftverekkel (kézirat)
- BÍRÓ G., BÍRÓ GY. (2000): Élelmiszer- biztonság. Táplálkozás- egészségügy, Budapest, Agroinfo Kiadó.
- BÍRÓ S., MONOK L., KEVEI F. , KUCSERA J., MARÁZ A., PESTI M., SZÚCS GY., VÁGVÖLGYI CS. (2001): Általános Mikrobiológia, Budapest- Pécs, Dialóg Campus kiadó, 89. p.

- BLIXT, Y. (1999): Using electronic nose for determining spoilage of vacuum packaged beef. *International J. Food Microbiol.*, 46, 123-134. p.
- BOLES J. A., PEGG R. (2000): Meat color
- BOLTON F.J., GIBSON D.M (1994): Automated electrical techniques in microbiological analysis. In: Rapid analysis techniques in food microbiology Blackie Academic and Professional, London, 130-167. p.
- BORCH E., KANT-MUERMANS M.-L., BLIXT Y. (1996): Bacteriological spoilage of meat and cured meat products. *Int. J. Food Microbiol.*, 33, 103-120.p.
- BREWER M.S., ZHU L. G., BIDNER B., MEISINGER D. J., MCKEITH F. K. (2001): Measuring pork color: effects of bloom time, muscle, pH and relationship to instrumental parameters, *Meat Science*. 52., 169-176. p.
- BURNS D. A. (1992): Historical development, In: Handbook of Near Infrared Analysis, Ed by Burns D. A., Ciurczak E. W., Marcel Dekker, Inc., New York, 1-5. p
- CHANTARACHOTTI J., OLIVEIRA A. C. M., HIMMELBLOOM B.H., CRAPO C. A., MCLACHLAN D.G (2006): Portable electronic nose for detection of spoiling Alaska pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*), *J. Food Sci.*, 71 (5), 414-421. p.
- CIURCZAK E. W.(1992): Principles of near-infrared spectroscopy. In: Handbook of Near-Infrared Analysis, 7-11 .p.
- CSISZÁR V. (1964): Húsvizsgálat és húshigiéne, Budapest. Mezőgazdasági Kiadó
- DAINTY R. H., MACKEY B. M. (1992): The relationship between the phenotypic properties of bacteria from chill-stored meat and spoilage processes, *J. appl. Bacteriol., Symp. Suppl.*, 73, 1035-1145.p.
- DALMADI I., SEREGÉLY ZS., FARKAS J., KAFFKA K. (2007): Néhány többváltozós kemometriai módszer, alkalmazása műszeres analitikai vizsgálatok értékelésére, *Élelmiszervizsgálati Közlemények*, 53, (4), 222-238. p
- DEÁK T. (1986): Élelmiszeripari mikrobiológia, Budapest, Kertészeti Egyetem
- DEÁK T., FARKAS J., INCZE K. (1980): *Konzerv-, hús- és hűtőipari mikrobiológia*, Budapest, Mezőgazda kiadó, 53. p.
- DEÁK, T. (2006): Élelmiszer-mikrobiológia, Budapest, Mezőgazda Kiadó, 382. p.
- ELLIS D. I., BROADHURST D., KELL D. B., ROWLAND J. J., GOODACRE R. (2002): Rapid and quantitative detection of the microbial spoilage of meat by Fourier transform infrared spectroscopy and machine learning. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68, 2822 – 2828. p.
- FARKAS J. (2003a): Mikrobás szennyezettség aktivitása gyors kimutatása
- FARKAS J. (2003b): Rapid detection of microbial contamination, Flair-Flow 4 synthesis report, SME-s No.9, INRA, Paris, France, 8-11. p.

- FARKAS J. (2004): Felhasználóbarát útmutató az előrejelzési mikrobiológiai modelleknek az élelmiszeripari és élelmiszervizsgálati gyakorlatban való alkalmazásához (kézirat)
- FIRSTENBERG- EDEN R. (1983): Rapid estimation of the number of microorganisms in raw meat by impedance measurement, *Food Technology*, 37, (10), 64-65. p
- FOSS NIRSYSTEM, 2000 Vision® Manual: Theory
- FUNAZAKI N., HEMMI A., ITO S., YASUKAZU A., YANO Y., MIURA, N., YAMAZOE, N. (1995): Application of semiconductor gas sensor to quality control of meat freshness in food industry. *Sensors and Actuators B*, 24-25, 795-800. p.
- GARDNER, J. W, BARLETT, P. N. (1993): A brief history of electronic nose, *Sesnsor and Actuators B*,18, 211-220. p.
- GÁRGÁNY Z. (1986): Húsipari technológiák, Mezőgazdasági Kiadó, Budapest
- GILL C. O., REICHEL M. P. (1989): Growth of the cold- tolerant pathogenes *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila* and *Listeria monocytogenes* on high pH beef packaged under vacuum or carbon dioxide. *Food Microbiol.* 6. 223-230.p.
- GILL, C. O., NEWTON K. G (1977): The developmnet of aerobic spoilage flora on meat stored at chill temperatures, *Journal of Applies Bacteriology*, 189-195. p.
- GIUNCHI A., BERARDINELLI A., RAGNI L., FABBRI A., SILAGHI F. A. (2008): Non-destructive freshness assessment of shell eggs using FT-NIR spectroscopy, *Journal of Food Engineering*, 89 (2),142-148. p.
- GRAM L., RAVN L., RASCH M., BARTHOLINBRUHN J., CHRISTENSEN B. A., GIVSKOV M. (2002): Food Spoilage- interactions between food spoilage bacteria, *International Journal of Food Microbiology*, 78,79-97. p.
- HAUGEN J. E., KVALL K. (1998): Electronic nose and artificial neural network, *Meat Scinece*, 49,273- 286. p.
- HASSAN Y., MÉSZÁROS L.,SIMON A., TUBOLY E.,MOHÁCSI- FARKAS CS., FARKAS J. (2002): Comparative studies on gamma radiation and high pressure induced effects on minced beef, *Acta Alimentaria*, 31(3), 253-264.p.
- HELLAND I.S. (1990): Pls regression and statistical models. *Scandivian Journal of Statistics*, 17, 97–114.p
- K. HORVÁTH, É. ANDRÁSSY, M. KORBÁSZ , J. FARKAS, (2007a):Using automatic conductometry for monitoring spoilage bacteria on chilled pork cutlets, *Acta Alimentaria*,36 (2,) 283-291 p.
- HORVÁTH K., FRIEDRICH L., KORBÁSZ M., ANDRÁSSY É., BECZNER J., FARKAS J. (2007b): Baktériumok sertéshúson szaporodásának nyomon követése automatikus impedimetriával.

KÉKI/ÉKB/MÉTE 2006. április 27-én tartott 324. tudományos kollokvium előadásának kivonata. *Élelmezési Ipar*, 61 (6), 175 p.

K. M. HORVÁTH, ZS. SEREGÉLY, I. DALMADI, É. ANDRÁSSY, J. FARKAS (2007c): Estimation of bacteriological spoilage of pork cutlets by electronic nose *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 54 (2), 179-194 p.

HORVÁTH K., SEREGÉLY ZS., ANDRÁSSY É., DALMADI I., FARKAS J. (2007d): Kísérletek közeli infravörös spektroszkópia (NIR) alkalmazására szeletelt sertés hús frissességének és romlásának gyors becslésére. *Centenáriumi Vegyészkonferencia, Sopron, 2007. május 29-június 1., Összefoglalók*, 246 p.

K. HORVÁTH, ZS. SEREGÉLY, I. DALMADI, É. ANDRÁSSY, J. FARKAS (2008): A preliminary study using near infrared spectroscopy to evaluate freshness and detect spoilage in sliced pork meat, *Acta Alimentaria*, 37 (1) 93-102 p.

HORVÁTH P. (2005): Táplálkozástan, Kaposvár, Képzőművészeti Kiadó.

HUANG Y., CAVINATO A. G., MAYES D. M., BLEDSOE G. E., RASCO B. A. (2002): Non-destructive prediction of moisture and sodium chloride in cold smoke Atlantic salmon, *Journal of Food Science*, 67, 2543-2547.p.

HUANG Y., ROGERS T. M., WENZ M. A., CAVINATO A. G., MAYES D. M., BLEDSOE G. E., RASCO B. A. (2001): Detection of sodium chloride in cured salmon roe by SW-NIR spectroscopy, *J. of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4161-4167.p.

INGRAM M, DAINTY R. H., (1971): Changes caused by microbes in spoilage of meat. *Journal of Applied Bacteriology* 34, 21–39. p.

INGRAM M., SIMONSEN B. (1980): Microbiology of Meats and Meat Products – in: *Microbial Ecology of Foods*, 2.

JONSSON A., WINQUIST F., SCHNURER J., SUNDGREN H., LUNDSTROM I. (1997): Electronic nose for microbial quality classification of grains, *Int. J. Food Microbiol.* 35, 187–193. p.

KAFFKA K., FARKAS J. (1999): A gázérzékelő sor- az elektronikus orr, *Magyar Kémikusok Lapja*, 54, 7-8, 329-333. p.

KAFFKA K., MARTIN A.P. (1985): Attempts to determine protein, fat and moisture in „animal protein meal” by the NIR technique, *Acta Alimentaria*, 14 (4), 309-318.p.

KELLER P. E., KANGAS LARS J., LIDEN H. LARS, HASHEM S., KOUZES T. R. (1998): Electronic nose and their application, *Meat Science*, 49, (1), 273-286. p.

LÁSZTITY R. (1981): Az élelmiszer- biokémiai alapjai, Budapest, Mezőgazdasági Kiadó

LÁSZTITY R., TÖRLEY D. (1993): Élelmiszer - kémia ,2 Mezőgazda kiadó, Budapest.

- LIN M., AL-HOLY N., MOUSAVY-HESARY M., AL-QADIRI H., CAVINATO A. G., RASCO B. A. (2004): Rapid and quantitative detection of the microbial spoilage of chicken breasts by diffused reflectance spectroscopy (600 – 1100 nm), *Appl. Microbiol.*, 39, 148-155. p.
- LIN M., MOUSAVI M., AL-HOLY M., CAVINATO A. G., RASCO B. A. (2006): Rapid near infrared spectroscopic method for the detection of spoilage in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet, *J. Food Sci.*, 71 (1), 18-23. p.
- LIRON Z., KAUSHANSKY N., FRISHMAN G., KAPLAN D., GREENBLATT J. (1997): The polymer-coated SAW sensor as a gravimetric sensor, *Analytical Chemistry*, 69, 2848-2854. p.
- LIU F., GUO YI-ZHI, LI YUN-FEI (2006): Interactions of microorganisms during natural spoilage of pork at 5°C, *Journal of Food Engineering*, 72, 24-29. p.
- LŐRINCZ F., LENCSEPETI J. (1973): Húsipari kézikönyv, Mezőgazdasági kiadó Budapest,
- MADIGAN M. T., MARTINKO J. M., PARKER J. (2003): Brock Biology of Microorganisms, Tenth Edition. Upper Saddle River, New Jersey: Pearson Education, Inc., USA, 1019. p.
- MARTENS H., NAES T. (1991): Multivariate calibration, John Wiles & Son, Chichester, New York, 89.p
- MCCLURE W. F. (2004): 204 years of near infrared technology: 1800-2003. *J. Near Infrared Spectrosc.* 11, (6), 487-518. p.
- McDONALD K., SUN D. W. (1999): Predictive microbiology for the meat industry, *J. Food Microbiol.*, 52, 1-27.p.
- MCGLONE A. V., DEVINE E. C., WELLS R. W. (2005): Detection of tenderness, post-rigor age and water status changes in sheep meat using near infrared spectroscopy, *J. Near Infrared Spectroscopy*, 13, 277-285. p.
- MCMEEKIN T. A., OLLEY J.N., ROSS T., RATKOWSKY D. A. (1993): Predictive microbiology theory and application. Reserch studies press Ltd., Taunton, Somerset, Englés
- MEAD G. C. (2004) Microbiological analysis of red meat, poultry an eggs, CRC Press, Cambridge England, Boca Raton Boston New York Washington, DC
- MIELLE P., HIVERT B., MAUVAIS G. (1995): Are gas sensor suitable for on-line monitoring and qualification of volatile compounds, Proceedings of Bioflavour 95, Dijon, 81-84. p.
- MIHÁLYI GY-NÉ. (1993): A nyers hús pigmentjei és színtabilitása, *A hús*, 1993, (4), 199-201.p.
- MOSEL D.A. A, CORPY J.E. L., STRUIJK C.B. & BAIRD R. M (1995): Essentials of the microbiology of foods, New York, John Wiley & Sons kiadó, 355.p.
- MURRAY I. (2004): Scattered information: philosophy and practice of near infrared spectroscopy. In *Near Infrared Spectroscopy: Proceedings of the 11 th International Conference*
- NÁDAI B.T. (1983): Preliminary experiments for measuring meat composition by near infrared reflection technique, *Acta Alimentaria*, 12 119-130.p.

- NÁDAI B.T. (1986): Application of NIR technique for raw mat composition control, *Periodica Polytechnica*, 30, 159-164.p.
- NILSEN H., ESAIASSEN M., HEIA K., SIGERNES E. (2002): Visible/near infrared spectroscopy. A new tool for the evaluation of fish freshness *J. Food Sci.*, 67, 1821 – 1826. p.
- NORRIS, K. H., BUTLER, W. L. (1961): Techniques for obtaining absorption spectra on intact biological samples. *Ire Trans Biomed Electron.*, 8, 153–157. p
- OLAFSDOTTIR G., CHAINE E., WESTAD F., JONSDOTTIR R., THALMANN C. R., BAZZO S., LABRECHE S., MARCQ P., LUNDBY F., HAUGEN J. E. (2005): Prediction of microbial and sensory quality of cold smoked Atlantic salmon. *J. Food Sci.*, 70 (9), 563-574. p.
- OSBORNE B.G., FEARN T. (1986a): Introduction. In *Near Infrared Spectroscopy in Food Analysis*, Longman Scientific & Technical, Harlow, 1-19. p.
- OSBORNE B.G., FEARN T. (1986b): Physics of the interaction of radiation with matter, In *Near Infrared Spectroscopy in Food Analysis*, Longman Scientific & Technical, Harlow, 43-56. p.
- OWENS J.D, THOMAS D.J., THOMPSON R.S (1989): Indirect conductometry, novel approach to the conductimetric enumeration of microbial populations, *Appl. Microbiol.*, 9, 245-249. p.
- OZAKI Y.-MCCLURE, W .F.- CHRISTY, A. A.(eds) (2006): *Near infrared spectroscopy in food science and technology*, John Wiley & Sons, Ltd. Chichester, England
- PÁSZTORNÉ HUSZÁR K., KISS I. (szerk.) (2006): *Minőségkímélő élelmiszertechnológiák és élelmiszer- biztonság*. Mezőgazdasági Kiadó
- PEARCE T. C., GARDNER J. W., FRIEL S. (1991): an electronic nose for monitoring the flavour of beer
- PERSAUD K, DODD G. H. (1982): Analysis of discrimination mechanisms in the mammalian olfactory system using a model nose, *Nature*, 299, 352-355. p.
- PINK J., NACZK M., PINK D. (1999): Evaluation of the quality of frozen minced red hake: use of Fourier transform near-infrared spectroscopy, *J. Agric. Fd Chem.*, 47, 4280 – 4284. p.
- RAJAMÄKI TIINA, ALAKOMI HANNA-LEENA, RITVANEN TIINA, SKYTТА EIJA, SMOLANDER MARIA, AHVENAINEN RAIJA (2006): Application of an electronic nose for quality assessment of modified atmosphere packaged poultry meat, *Food Control*, 17, 5–13. p.
- RAMALHO R., CUNHA J., TEIXEIRA P., GIBBS P. A. (2001): Improved methods for the enumeration of heterotrophic bacteria in bottled mineral waters, *Journal of Microbiological methods*, 44, 97-103. p.
- RENERRE, M. (1990): Review: Factors involved in the discoloration of meat, *International Journal of Food and Technology*, 25, 613.p.
- ROSS T., MCMEEKIN T.A. (1999): Predictive modelling of the microbiological safety and quality of meat products, In: *Predictive microbiology applied to chilled food preservation*. EUR 18816.

- Directorate-General for Science, Research and Development, Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg, 159-166.p.
- RULE P. (1997): Measurement of microbial activity by impedance in Food microbiological analysis. *New technologies*, Marcel Dekker, Inc., New York, 305-314. p.
- RUSSEL S. M., FLETCHER D. L., COX NELSON A. (1995): Comprison of media for determinig temperature abuse of Fresh broiler carcasses using impedance microbiology, *Journal of Food Protection*, 58, 1124-1128. p.
- SALVAT G., RUDELLE S., HUNBERT F., COLIN P., LAHELLEC C. (1997): A selective medium for the rapid detection by an impedance tecnique of *Pseudomonas* spp. associated with poultry meat, *J. of Applied Microbiology*, 83, 456-463 p.
- SCHALLER E., BOSSET, J. O., ESCHER F. (1998): 'Electronic noses' and their application to food. *Lebensm.Wiss.u.-Technol.*, 31, 305-316. p.
- SEREGÉLY ZS., NOVÁK I. (2005): Evaluation of signal response of the electronic nose measured on oregano and lovage samples using different methods of multivariate analysis, *Acta Alminetaria*, 34(2) 131-139.p.
- SINELLI N. (2006): Monitoring the shelf life of dairy products, *New Food*, 38-39, (4), 42-44. p.
- SMITH L. (2002): A tutorial on Principal Component Analysis
- SMOLANDER, M., ALAKOMI, H.-L., RITVANEN, T., VAINIONPA. A, J., AHVENAINEN, R. (2004): Monitoring of the quality of modified atmosphere packaged broiler chicken cuts stored in different temperature conditions. A. Time-temperature indicators as quality-indicating tools. *Food Control*, 15, 217–229.p.
- STELLA R., BARISCI J. N., SERRA G., WALLACE G. G, ROSSI D.D. (2000): Characterization of olive oil by an electronic nose based on conducting polymer sensors, *Sens. Actuators B* 63, 1–. P.
- STRAK E., LUCHER K. (2004): Diversity in NIR instrumentation. *In Near Infrared Spectroscopy*. Proceedings of th 11 th International Conference, Ed by Davies A. M. C., Gradio-Varo A., NIR Publications, Chichester, 55-66. p.
- Takács J. (1971): A sertéshús termelés vágóhídi és húshigiéniai problémái. *Magyar Állatorvosok lapja.*, 26, 275.p.
- THUMEL H. (1995): Preserving meat and meat products Possibilities and methods–in: *Fleischwirtsch.*75,5
- VANDERZANT, NICKELSON R. (1969): A microbiological examination of muscle tissue of beef, pork and lamb carcasses., *J. Milk Food Tech.* 32., 357. p.
- VARADI M., HRUSCHKA W., NORRIS KH. (1992): Investigation into the applicability of diffuse reflectance and transittance technology to tobacco analysis, *Acta Alimentaria*, 21(1), 95-106 .p.

VIDÁCS I., BECZNER J. (1996): Effects of combined treatments on spore forming, bacteria - potentialities of the Malthus instrument. *Acta Alimentaria*, 25, 211-216. p.

VIDÁCS I., BECZNER J. (1998): Comparison of media for enumeration of *Clostridium sporogenes* PA3678/S by conductance measurement. *Acta Alimentaria*, 27, 77-85. p.

WAWERLA M., STOLLE A., SCHALCH B., EISGRUBER H. (1999): Impedance microbiology: applications in food hygiene, *J. Fd Protect.*, 62, 1488-1496. p.

WINQUIST F., HORNSTEN E.G., SUNDGREN H., LUNDSTROM I. (1993): Performance of an electronic nose for quality estimation of ground meat, *Meat Sci. Technol.*, 4, 1493-1500. p.

WORKMAN J. J. JR., BURNS D. A. (1992): Commercial NIR instrumentation. In Handbook of Near- Infrared Analysis, Ed by Burns D.A. Ciurczak E.W., Marcel Dekker, Inc., New York, 37-51. p.

www.combase.cc

ZHANG HONGMEI, WANG JUN, YE SHENG (2008): Prediction of soluble solids content, firmness and pH of pear by signals of electronic nose sensors *Analytica Chimica Acta*, 606, (1), 112-118. p.