

Szent István Egyetem
Élelmiszertudományi Kar
Árukezelési és Áruforgalmazási Tanszék

**A KOCKÁZATELEMZÉS SZEREPE AZ
ÉLELMISZERIPARI MINŐSÉGIRÁNYÍTÁSBAN**

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

Syposs Zoltán

Témavezető
Dr. Kollár Gábor
Tanszékvezető egyetemi docens

Budapest
2003

DOKTORI ISKOLA

Doktori iskola megnevezése:	Szent István Egyetem, Tájépítészet és Döntéstámogató rendszerek Doktori Iskola
Tudományága:	Multidiszciplináris agrártudományok (Gazdálkodás- és szervezéstudományok)
Témacsoport:	Élelmiszeripari kockázatelemzés
A dolgozat címe:	A kockázatelemzés szerepe az élelmiszeripari minőségirányításban
Doktori iskola vezetője:	Harnos Zsolt, MHAS egyetemi tanár Szent István Egyetem
Témavezető:	Dr. Kollár Gábor tanszékvezető egyetemi docens Szent István Egyetem Élelmiszeritudoományi Kar Árúkezelési és Áruforgalmazási Tanszék
Opponensek:	Farkas József, MHAS Szent István Egyetem Élelmiszeritudoományi Kar Hűtő és Állatitermék Technológia Tanszék Dr. Bánáti Diána Élelmiszertudományok kandidátusa KÉKI főigazgató Budapest

.....
Iskola vezető jóváhagyása

.....
Témavezető jóváhagyása

Bevezetés

Az élelmiszeripar- és agrár-szektorban az első és legfontosabb minőségi paraméter az élelmiszerbiztonság. Az élelmiszer-előállítási technológiák és az ellenőrzésben alkalmazott analitikai módszerek, eljárások gyors fejlődése ellenére az élelmiszerbiztonsággal kapcsolatos balesetek száma világszerte nő. Ennek háttérében többek között az áruk és szolgáltatások felgyorsult és szabad kereskedelme, a megnövekedett élelmiszerkereslet és a tömegtermelés, illetve különböző patogén mikroorganizmusok és kémiai szennyező anyagok gyakori előfordulása áll.

Az élelmiszerbiztonsági rendszerek egyik leghatékonyabb és nemzetközileg elfogadott módszere a HACCP (*Hazard Analysis Critical Control Point*). Középpontjában a termék/termékcsoporthoz tartozó biztonság áll, az elsődleges agrártermeléstől, a feldolgozáson keresztül, a szállítást, kereskedelmet is beleértve, egészen a fogyasztóig bezárólag.

Az élelmiszerbiztonsági rendszer hatékony ipari alkalmazását kizárólag olyan termelési tapasztalatokon nyugvó, valamint tudományos szempontból is megalapozott intézkedések biztosíthatják, melyek a fellépő veszélyeket és azok értékelését (kockázat) állítják a rendszer középpontjába.

Annak ellenére, hogy a kockázatelemzés módszerét már több éve kiterjedten alkalmazzák az üzleti életben, az iparban, a hadseregben, a közigazgatásban, kórházakban és egyéb területeken is, az élelmiszeriparban sokáig csak rögtönzésszerűen használták. Az utóbbi években az élelmiszerek vélt és valós egészségügyi kihatásai miatt tapasztalt növekvő aggodalom egy formális kockázatelemzési módszertan kibontakozását tette szükségessé.

A kockázatelemzéssel kapcsolatos döntések meghozatalakor legfontosabb szempont az emberi egészség védelme, ezért az elfogadható kockázati szint meghatározásakor elsősorban az egészségügyi szempontokat kell figyelembe venni. Ezen túlmenően a kockázatelemzés módszertanát hatékonyan lehet alkalmazni más területeken is, mint például a minőségköltségek optimalizálása, termelés hatékonyságának javítása, kutatás és fejlesztés, technikai kivitelezhetőség, valamint a vállalat egészének társadalmi megítélése.

Kutatásaim során a kockázatelemzés alkalmazásának vállalati szintű lehetőségeivel foglalkoztam, az alkoholmentes italok gyártásának területén. Ez az iparág rendkívül dinamikusan fejlődik, és egyre több olyan termék gyártásával

foglalkozik, melyek mikrobiológiai érzékenysége számottevő, és korántsem hasonlítható a megszokott tartósítószeres, szénsavas üdítőitalokhoz. Munkám során a kockázatelemzési eljárásokat mind az élelmiszerbiztonsági, mind a szélesebb körben értelmezett mikrobiológiai-minőség kategóriában alkalmaztam.

Kutatási célok

Munkám célja az üdítőital iparban alkalmazott, különböző szintű mikrobiológiai minőségi paraméterek előrejelzésére alkalmas kockázatbecslési rendszer kidolgozása volt.

Ennek kapcsán az alábbi kérdésekre kerestem választ:

- Miként alkalmazhatók a rendelkezésre álló kockázatbecslési módszerek az élelmiszeriparban?
- Milyen előrejelzési modell illeszthető az aszeptikus PET technológia egyes folyamataira? Ezen belül a következők vizsgálatát láttam célszerűnek:
 - a *Klebsiella oxytoca* előfordulási valószínűsége a vízkezelés folyamatában,
 - az *Alicyclobacillus acidoterrestris*, a *Bacillus subtilis*, valamint az *Aspergillus ochraceus* és *Cladosporium cladosporoides* törzsek túlélési valószínűsége a PET palackok kémiai dekontaminálásakor.
- Alkalmas-e a Monte-Carlo módszer az aszeptikus PET technológia folyamatainak modellezésére?
- Lehetővé teszik-e az alkalmazott validálási folyamatok a kockázatbecslés módszertanának ipari szintű alkalmazását?
- Milyen mikrobiológiai határértékekkel jellemezhető a PET palackok kémiai dekontaminálási hatékonysága?

Kísérleteim tervezésekor az egyik fő szempont az volt, hogy választ adhassak az iparban nap mint nap elhangzó kérdésre: mi a valószínűsége, hogy adott technológiát és gyártási körülményeket jellemző mikrobiológiai állapot mellett az előírásoknak megfelelő készterméket állíthatunk elő? Ebben a környezetben kerestem a választ arra is, hogy a Codex Alimentarius által leírt kockázatelemzési módszertan milyen mélységben valósítható meg ipari szinten és az hogyan nyújt segítséget a gazdasági döntésekben.

Anyagok és módszerek

Kutatási területem a vízkezelésre és az aszeptikus töltést megelőző palack és csavarzár kémiai dekontaminálására koncentrálódik. A kísérleteket a vízkezelési technológia és a PET palackok sterilizálási folyamat lépéseinél végeztem.

Mikrobiológiai vizsgálati módszerek

A mikrobiológiai vizsgálatok során a mindennapi laboratóriumi gyakorlatban általánosan használt szabványos lemezöntéses és membránszűréses eljárásokat alkalmaztam az élősejtszám meghatározására.

Az első kísérletsorozathoz (vízkezelés), iparból izolált, a coliform csoportba tartozó *Klebsiella oxytoca* törzset választottam.

A második kísérletsorozatban (PET palackok kémiai dekontaminálása) – 4 teszt mikroorganizmust választottam (*Alicyclobacillus acidoterrestris*, *Bacillus subtilis*, *Aspergillus ochraceus*, *Cladosporium cladosporoides*), melyek jelentőségét az italiparban számos élelmiszerromlás bizonyította.

***Klebsiella oxytoca* vegyszeres pusztulásának vizsgálata**

A kísérletsorozat elvégzését a technológiába belépő víz (nyersvíz) kezelésénél alkalmazott klórozási eljárás hatékonyságának értékelése és modellezése indokolta.

A kísérleteket szobahőmérsékleten (22-24 °C) végeztük különböző klórkoncentráció-ra beállított vizes közegben. Az alkalmazott aktív klór koncentrációk (4, 6, 8, 10, 12 mg/l) beállítása desztillált vízhez adagolt, kereskedelmi forgalomból származó, 90 g/l aktív klór tartalmú oldattal történt.

A kísérletekhez egy-napos, ferde agaros *Klebsiella oxytoca* tenyészeteket használtunk, melyet steril vízzel mostunk le. A dezinficiálási kísérletek során 1 ml alapsuszpenziót adtunk a 12,5 ml-nyi, különböző klór-koncentrációjú oldatokhoz. A szuszpenzió élősejtszámát 10, 20, 30, 40 és 50 perces mintavételeknél lemezöntéssel határoztuk meg. A kiindulási élősejtszám-értéket az alapsuszpenzió sejtkoncentrációjából számítottuk ki.

A különböző koncentrációkhoz (c) tartozó pusztulási sebességi együtthatókat (k) a túlélési görbék (élősejtszám logaritmus a idő függvényében) lineáris regresszióval számított egyenletének meredekségéből határoztuk meg.

A lg k értékeket ábrázolva lg c függvényében, a kapott egyenes meredeksége megadja az alkalmazott dezinficiensre vonatkozó koncentráció-exponens (n) értékét.

A koncentráció-exponens ismeretében a különböző koncentrációkhoz tartozó pusztulási sebességi együtthatók, vagy tizedelődési idők számíthatók.

***Klebsiella oxytoca* túlélésének technológiai modellezése**

A kísérleti üzemben felállított 1 m³-es nyersvíz tartályból mechanikai szűrés (homokszűrő) után kerül a víz a reakciótartályokba, ahol a vegyszeres (klóros) kezelésére kerül sor egy vegyszeradagoló szivattyún keresztül. A klór adagolása közvetlenül a tartály előtti csőszakaszban történik. A klór eltávolítása aktívszén-szűrőkön zajlik, majd a következő lépcsőben a víz egy 10 µm-es finomszűrőn (*polisher*) keresztül halad át.

A nyersvízellátó rendszer 1 m³-es tartályába injektáltuk be a *Klebsiella oxytoca* hígított szuszpenzióját. A rendszerbe bevitt kezdeti élősejtszám N₀ [cfu/ml] értékét az inokulumként használt szuszpenzió lemezöntéssel meghatározott élősejt koncentrációja alapján számítottam ki. Az inokulum mértékét 10 napos periódusokon belül közel állandó szinten tartottam naponkénti beinjektálással. A 10 napos periódus letelte után új inokulum szintre tértem át. A kezelt víz fertőzöttségét naponta ellenőriztem N₁ [cfu/ml]. A vízkezelési technológia elemeinek tisztítása és kezelése a normál üzemi gyakorlatnak megfelelően zajlott. A klórozás 6-8 mg/l (átlagosan 7 mg/l) aktív klór tartalmú oldattal történt 50 perces kontakt idővel a klórozó (reakció) tankokban. *Klebsiella oxytoca* szelektív kitenyésztésére Endo agart (MERCK) alkalmaztunk. Tenyésztés 37 °C-on, 2 napos inkubálással történt. A kimutatás alsó határa 4·10⁻³ cfu/ml (1 cfu/250ml), logaritmusos értékben lgN = -2,4.

A kockázatbecslés végpontját lgN = -2,4 értékben határoztam meg.

PET palackok fertőtlenítési kísérlete

Az aszeptikus PET töltési technológia palack dekontaminálási lépésében legtöbbször Oxonia típusú fertőtlenítő szert alkalmaznak. Ez a vegyszer a perecetsav 5,8%-os és hidrogén-peroxid 27,5%-os 1:4 arányú elegyből áll. A palackok dekontaminálásakor a fertőtlenítőszer 1500 mg/l perecetsav tartalommal alkalmaztuk, ami az aszeptikus PET technológiában általánosan alkalmazott értéknek felel meg. A dekontaminálási eljárás első lépésében a PET palackokat egy nagy sebességgel forgó – 28,000 palack/óra – öblítőgép szájukkal lefelé fordítja. Ezt követően a vegyszert nagy nyomással (3,5 bar) a palackokba injektálják, úgy hogy a palack belső felületének egészen egy fertőtlenítőszeres film-réteg keletkezik. A fertőtlenítőszer

hőmérséklete 52 °C, kontakt idő 8 sec. A fertőtlenítőszer eltávolítása steril vizes öblítéssel történik. A maradék vegyszer koncentráció teljes palacktérfogatra vonatkoztatva kisebb kell, hogy legyen, mint 0,5 mg/l.

Üzemi kísérleteinket 4 ismétlésben végeztük, minden ismétlésben teszt-mikroorganizmusonként 24 palackot fertőztünk meg ismert koncentrációjú inokulummal, majd a palackok a normál technológiai gyakorlatnak megfelelő fertőtlenítési kezelést kaptak a gyártó-soron.

Összes vizsgálat:

96 fertőzött PET palack / teszt mikroba + 4 pozitív kontroll + 4 negatív kontroll.

Teszt-mikroorganizmusok:

Alicyclobacillus acidoterrestris

Bacillus subtilis

Cladosporium cladosporoides

Aspergillus ochraceus

Az inokulummént használt szuszpenziókban hozzávetőlegesen 90%-os spórás sejtállapotú tenyészetet használtam. A szuszpenzió beállításakor törekedtem a 10^6 cfu/palack nagyságrendnyi indulási sejtszám elérésére, annak érdekében, hogy modellezni tudjam a technológiába kerülő rezisztensebb (spórás) sejtállapotú teszt-mikroorganizmusok túlélési valószínűségét.

500 ml térfogatú PET palackokba 1 ml mikroba szuszpenziót injektáltam, majd a palackok forgatásával lehetőleg egyenletesen eloszlattam azok belső felületén. A palackokat ezután szobahőmérsékleten (20-24 °C) 2 napon keresztül beszárítottam.

A palackokat oxonia fertőtlenítőszerrel a normál technológiai eljárásnak megfelelően fertőtlenítettük.

A palackok maradék élősejtszámát 100 ml steril vízzel való kiöblítés után, az öblítővíz membránszűrésével határoztuk meg. Pozitív kontrollok (beoltott, de nem fertőtlenített palackok) esetében az élősejtszámot a 100 ml öblítővíz lemezöntéssel meghatározott élősejtszáma alapján számítottuk ki.

A kockázatbecslés végpontját: 1 cfu/palack értékben határoztam meg.

A túlélési kockázat matematikai modellezése

A túlélési kockázat matematikai modellezését a pusztulás-kinetika paraméterek meghatározása, a tartózkodási időeloszlások figyelembevétele, valamint a bemenő fertőzöttségi szint ingadozásának becslése alapján Monte-Carlo szimulációs eljárással végeztük. A pusztulás-kinetikai paraméterek meghatározásához szükséges matematikai-statisztikai számításokat STATGRAPHICS 5.1 (Statistical Graphics Corporation, USA) programcsomaggal végeztem.

A Monte-Carlo szimulációs eljáráshoz Microsoft Excel 2002 (Microsoft Corporation) és @Risk 4.5 for Excel (Palisade Corporation, Newfield, New York) programcsomagokat használtam. A dolgozatomban leírt és alkalmazott modellekben legtöbbször 10.000 iterációt végeztünk.

Eredmények és értékelésük

Klebsiella oxytoca vegyszeres pusztulásának eredményei

Meghatároztam a különböző aktív klór koncentrációkhoz tartozó túlélési görbéket.

A túlélési görbék meredekségéből (m) a pusztulási sebességi együtthatókat (k), illetve a tizedelődési időket (D) számítottam ki:

1. táblázat. *Klebsiella oxytoca* aktív klór hatására végbemenő pusztulásának kinetikai paraméterei

klór (mg l^{-1})	k (min^{-1})	D (min)
4	0.135	17.0
6	0.195	11.8
8	0.328	7.02
10	0.393	5.87
12	0.583	3.95

A mérési adatokból meghatározott regressziós egyenlet:

$$\lg k = -1,689 + 1,317 \cdot \lg c, \quad R^2 = 0,979$$

A kapott koncentrációexponens, 95%-os konfidencia-intervallumát is figyelembevéve ($n = 1,32 \pm 0,35$) jól egyezik a hipoklórossavra vonatkozó $n = 1$ irodalmi adattal (Odlaug, 1981).

Az ipari vízkezelésben alkalmazott átlagosan 7 mg/l aktív klór koncentrációhoz tartozó pusztulási sebességi együttható: $k = 0,265 \text{ min}^{-1}$.

***Klebsiella oxytoca* technológián belüli túlélésének modellezése**

A vízkezelő rendszerben az N_0 [cfu/ml] kezdeti élősejt koncentráció a klórozás hatására N [cfu/ml] értékre csökken. A dezinficiálás két, sorosan kötött, azonos térfogatú klórozó tartályban megy végbe. A klór-tartalom semlegesítése az aktív szenes szűrőn történik, így a klórozást túlélő sejtek az aktív szenes szűrő után bejutnak a technológiába, tehát a szirupkészítésre, tisztításra vagy akár a késztermék előállítására felhasznált vízben is előfordulhat a fertőzés.

A (t) ideig tartó klór-behatás után az élősejt koncentráció (N_t) értékét a folyamatot leíró pusztuláskinetikai differenciálegyenlet megoldásából számítottam ki, ahol $k(c)$ a c klór koncentrációhoz tartozó pusztulási sebességi együttható, (t) a klórral való aktuális kontakt idő, amit a reaktorokban való tartózkodási idővel közelítettem.

A klórozó tankokban való tartózkodási időeloszlás $f(t)$ sűrűségfüggvényét a tökéletesen kevert kaszkád reaktorokra vonatkozó tartózkodási időeloszlással közelítettem.

A matematikai modellnél figyelembe vett paramétereket valószínűségi változóknak tekintettem, amelyeket a megfelelő eloszlás-típussal, várható értékkel (μ) és szórással (σ) jellemeztem. A túlélő sejtszámot befolyásoló paraméterek (N_0 , c , t) ingadozása explicit formában nem vehető figyelembe, ezért azok hatásának modellezésére a Monte-Carlo módszert alkalmaztam.

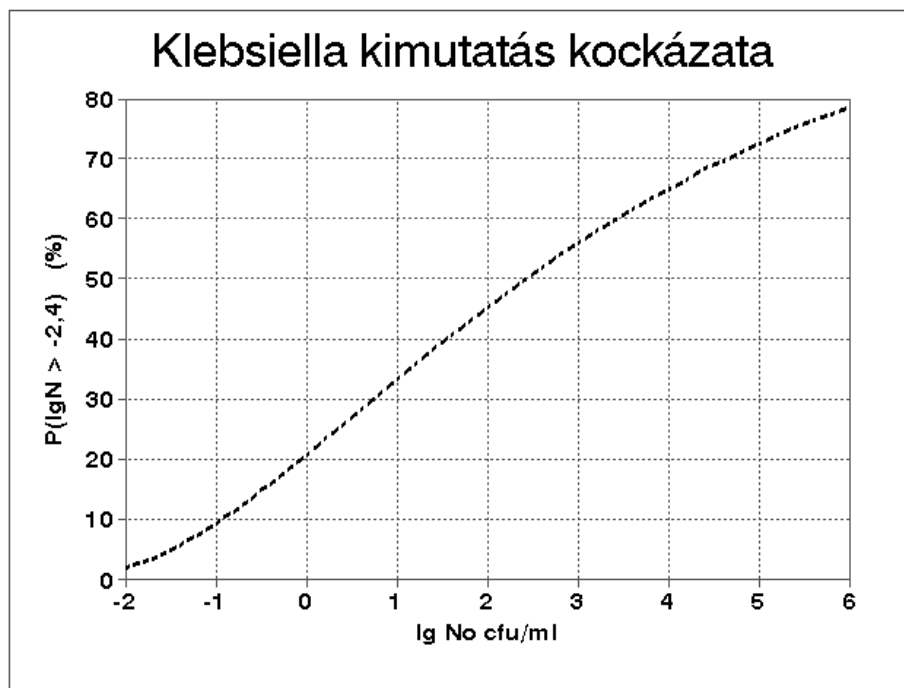
A Monte-Carlo módszernél alkalmazott paraméterek becsült értékeit a 2. táblázatban foglaltam össze.

2. táblázat. A Monte-Carlo szimulációban alkalmazott paraméterek becsült értékei

Input paraméter	Eloszlás típus	Eloszlás paraméterei
Bemenő sejt-koncentráció	Normál $x = \log N$	$\mu = -2 - 6$ $\sigma = 0.5$
Klór koncentráció a tankokban	Normál $x = c$	$\mu = 7.0$ (mg/l) $\sigma = 0.5$ (mg/l)
Tartózkodási idő az első tankban	Exponenciális $x = t$ $\beta = \bar{t}$	- $\beta = 25$ (min)
Tartózkodási idő a második tankban	Exponenciális $x = t$ $\beta = \bar{t}$	- $\beta = 25$ (min)

A vízkezelő rendszer hatékonyságának jellemzésére a *Klebsiella oxytoca* vegyszeres kezelést követő túlélési és kezelt vízből való kimutatási valószínűségét számítottam ki a bemenő sejtkoncentráció függvényében. A kimutatási küszöbérték 1 sejt/250 ml, logaritmálva $N = -2,4$. Ennek megfelelően a túlélési és detektálási valószínűség a Monte-Carlo szimuláció által szolgáltatott eloszlás-függvényből a $[\lg N_t > -2,4]$ értékekhez tartozó valószínűséggel $[P(\lg N_t > -2,4)]$ becsülhető.

A bemenő sejtkoncentráció $[\lg N_0]$ értékét -2 és 6 között szisztematikusan változtattam és minden egyes értéknél 10.000 iterációt végezve, kiszámítottam a $[\lg N_t]$ értékeket. Ezután a program segítségével meghatároztam a $[\lg N_t > -2,4]$ értékek valószínűségét $[P(\lg N_t > -2,4)]$ az $[\lg N_t]$ értékek eloszlásfüggvényéből. Az így kapott valószínűségeket ábrázoltam a bemenő sejtkoncentráció ($\lg N_0$) függvényében. Az 1. ábrán szemléltetett eredményekből látható, hogy a hagyományos vízkezelő rendszerben, még a legkisebb mérhető fertőzési dózisonál is 3-4% a valószínűsége, hogy legalább 1 *Klebsiella oxytoca* sejt túléli a kezelést és kimutatható az alkalmazott mikrobiológiai vizsgálatokkal.



1. ábra. A fertőtlenítést túlélő *Klebsiella oxytoca* sejtek kimutatási valószínűsége a nyersvíz fertőzöttségének függvényében

***Klebsiella oxytoca* kimutathatóság modelljének validálása**

Az ismertett modell validálása egy franciaországi töltőgép- és vízkezelési berendezéseket gyártó kísérleti üzemben történt, 18 dekádon (180 nap) keresztül végzett kísérletsorozattal. A kezelt víz *Klebsiella oxytoca* fertőzöttségét naponta ellenőrizték membránszűréssel. A fertőzési valószínűséget a 10 nap alatt meghatározott *Klebsiella oxytoca* pozitív minták relatív gyakoriságával becsültük. Az eredményeket a 3. táblázatban foglaltam össze.

3. táblázat. A fertőtlenítést túlélő *Klebsiella oxytoca* kimutathatóság kockázati modelljének validálása

Dekád	log N ₀	P(lg N _t >-2.4) (%)	Kimutatási (%)
1.	-0.49	15	10
2.	-1.40	6	10
3.	-	0	0
4.	-0.50	15	20
5.	0.48	26	30
6.	0.30	25	20
7.	3.04	56	50
8.	0.70	31	30
9.	4.08	66	70
10.	1.99	45	40
11.	0.00	20	30
12.	-1.00	9	10
13.	-0.82	11	0
14.	-0.52	14	20
15.	-1.70	4	10
16.	0.08	21	20
17.	1.23	36	30
18.	-0.60	14	10

Vizsgálataim alapján meghatároztam a fertőtlenítést túlélő *Klebsiella oxytoca* kimutathatóság kockázati valószínűségére vonatkozó számított értékek és a tapasztalati gyakoriságok közötti regressziós összefüggést:

$$\text{Tapasztalati gyakoriság (\%)} = -1,28 + 1.091 \cdot \text{számított valószínűség (\%)}$$

Adatpárok száma = 18

Determinációs együttható: $R^2 = 0,905$

PET palackok fertőtlenítési kísérleteinek eredményei

A PET palackok fertőtlenítési kísérleteiben a palackok induló sejtszámát az inokulum lemezöntéssel meghatározott élősejt-koncentrációjából számítottam ki.

A 8 mp-es fertőtlenítési idő után a kezelt palackok maradék élősejtszámát meghatározva, kiszámítottam a sejtszám csökkenés mértékét logaritmus egységekben kifejezve. A fertőtlenítési kísérletekben számottevő túlélést csupán az *Alicyclobacillus acidoterrestris* esetében tapasztaltam, de a maradék élősejtszám ekkor is az esetek igen

nagy többségében 10 alatti volt. A túlélési arány megoszlását teszt-mikrobánként csoportosítva a 4. táblázatban foglaltam össze.

4. táblázat. PET palackok fertőzöttségének megoszlása a 4 ismétlés összesítésében

Teszt törzs	Kezelt palack db	Túlélés mérve db	Fertőzöttség mértéke cfu/palack	
			1-10	11-100
<i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i>	96	90 (94%)	85 (94%)	5 (6%)
<i>Bacillus subtilis</i>	96	20 (21%)	20 (100%)	0
<i>Cladosporium cladosporoides</i>	96	1 (1%)	1 (100%)	0
<i>Aspergillus ochraceus</i>	96	0	0	0

A tizedelőési idők számításakor a teljes pusztuláshoz tartozó élősejtszám-redukciót vettem figyelembe. Ez a közelítés a 0 túlélés esetében egy felső határt ad a D értékre. Túlélést mutató esetekben (*A. acidoterrestris* és *B. subtilis*) egy átlag-közelítési eljárásnak tekinthető a számítás, hiszen a pusztulás mértékének meghatározásakor a kiindulási sejtszámnál nagyobb értéket nem vehetünk figyelembe, jóllehet a valóságban esetleg a kezelés hatékonyabb.

5. táblázat. PET palackok fertőtlenítési kísérleteinek részletes eredményei

Teszt törzs	lgN ₀	Fertőzött palackok száma kezelés után				lg N ₀ /N _t	D* (s)
		1.	2.	3.	4.		
<i>A. acidoterrestris</i>	5,82	24	23	23	20	4,59->5,82	1,37
<i>B. subtilis</i>	6,34	0	9	10	1	5,39- >6,34	1,26
<i>C. cladosporoides</i>	6,32	0	0	1	0	6,02- >6,23	1,26
<i>A. ochraceus</i>	6,15	0	0	0	0	>6,15	1,30

(Kezelt palackok száma: 96/törzs/ismétlés)

* 8 s behatási idővel számítva

A fertőtlenítési eljárás túlélése tekintetében azonban különbségek mutatkoznak a vizsgált törzsek között. Míg az *A. ochraceus* és *C. cladosporoides* szinte teljes mértékben elpusztul, addig a *B. subtilis* és különösen az *A. acidoterrestris* a kísérletekben alkalmazott nagy (10⁶ cfu/palack) induló sejtszámoknál igen jelentős gyakorisággal túlélheti a kezelést.

PET palackok fertőzöttségének valószínűségi modellje

Az aszeptikus PET technológiában a palackok fertőzöttségi valószínűségét leíró Monte-Carlo szimulációs eljárással határoztam meg.

A szimulációnál figyelembe vett paraméterek eloszlása, várható értékei és szórásai az alábbiak:

Bemenő paraméter: lg N₀, σ = 0,5 .

A bemenő paraméter értékét folyamatosan változtattam lgN₀ =1–7 tartományban 0,5 lépésenként.

Vegyszeres kontakt-idő: t = 8 s σ = 0,5 s

Tizedelődési idő: D = 1.3 s σ = 0,2 s

Túlélést leíró modell: lg N_t = lg N₀ – t/D

Modell kimenő paramétere:

Romlási valószínűség: annak a valószínűsége, hogy palackonként legalább 1 mikroba túléli a kezelést P(lg N_t ≥ 0).

Monte-Carlo szimulációval minden bemenő paraméterhez 10.000 iterációt végezve, az eredményeket a 6. táblázatban foglaltam össze:

6. táblázat. PET palackok fertőzöttségének valószínűsége a kiindulási kontamináció függvényében

lg N ₀	Ideális közelítés			Monte Carlo
	lgN _t =lgN ₀ -8/1,3	N _t	P=1-e ^{-N_t} (%)	P(lg N _t ≥ 0) (%)
7	0,85	7	99,9	74,5
6,5	0,35	2,2	88,9	60,7
6	-0,15	0,71	50,4	43,2
5,5	-0,65	0,22	19,8	26,3
5	-1,15	7·10 ⁻²	6,78	12,1
4,5	-1,65	2·10 ⁻²	2,00	4,32
4	-2,15	7·10 ⁻³	0,69	1,14
3,5	-2,65	2·10 ⁻³	0,20	0,17
3	-3,15	7·10 ⁻⁴	0,07	0,02
2,5	-3,65	2·10 ⁻⁴	0,02	0,0015
2	-4,15	7·10 ⁻⁵	0,007	<0,001

A romlási valószínűség elméletileg várható értéke a pusztuláskinetikai összefüggés alapján kiszámított túlélő sejtszámokból került meghatározásra.

Annak a valószínűsége, hogy egy palackban túlélő sejtet találunk:

$$P = 1 - \exp(-N_t)$$

Az elméleti (közelítő) pusztuláskinetikai összefüggéssel számított N_t értékek nem veszik figyelembe a paraméterek valószínűségi változó jellegéből eredő ingadozását, ezért azok a fenti összefüggéssel számított valószínűségekben sem jelentkeznek. Összehasonlításképpen a 6. táblázatban a Monte-Carlo szimuláció eredményei mellett az elméleti (közelítő) összefüggéssel kiszámított értékeket is feltüntettem.

Mivel a vizsgált tenyészetek tizedelődési ideje a rendszerben nagyon hasonló, a túlélési valószínűségek mindegyik vizsgált mikrobára egyaránt jó közelítésben alkalmazhatók.

Következtetések

A gyártási folyamatok mikrobiológiai kockázat-becslésére alkalmazott modellezési eljárások rendkívül hatékony eszköznek bizonyultak a termék minőségének előrejelzésére. Az üzemi kísérletekből származó mérési eredmények feldolgozása és kiértékelése alapján az alábbi következtetéseket vontam le.

- A hagyományos vízkezelési eljárásban alkalmazott vegyszeres kezelési módszer hatásfoka gyenge, nagy a kockázata a vizsgált *Klebsiella oxytoca* kezelt vízben való megjelenésének, együtt a klórozás utáni fertőződés lehetőségét növeli.
- A *Klebsiella* spp. túlélésére vonatkozó Monte-Carlo módszerrel számított kockázati modell a valódi fertőzési arányokat a vizsgált, alacsony terhelésű (kis mértékű bemenő fertőzésű) esetekben jól közelíti, amit a 180 napig tartó üzemi validálási kísérletek egyértelműen bizonyítottak.
- Az aszeptikus PET technológiában alkalmazott palack dekontaminációs rendszerben alkalmazott nagy terhelés (nagy induló sejtkoncentráció) esetében a Monte-Carlo szimuláció kevésbé jó becslést adott a túlélési valószínűsége, mint a pusztuláskinetikai paramétereiből számított túlélési görbén alapuló közelítő (exponenciális) statisztikai modell.
- Az aszeptikus PET technológiában gyakorlatilag megengedhető 1/10.000 (0,01%) selejtarányt eredményező induló mikrobiális szennyezés megengedhető mértékének meghatározására a klasszikus megközelítést célszerűbb alkalmazni. Az értekezésben összefoglalt eredmények alapján javasolt mikrobiológiai határérték a megengedhető induló szennyezésre:

$$N_0 \leq 100 \text{ cfu/palack}$$

A megadott határérték valószínűsíti, hogy betartása esetén a vegyszeres dekontaminálás eredményeként a palackok kevesebb, mint 0,01%-a lesz csak fertőzött.

Összefoglalás

Munkám során áttekintettem az élelmiszergazdaságban alkalmazott minőségirányítási rendszerek sajátosságait, ezen belül a HACCP rendszer szerepét az élelmiszerbiztonság területén. Részletesen tanulmányoztam a témakörhöz szorosan kapcsolódó kockázatelemzés szakirodalmát, ahol a fizikai és kémiai kockázatelemzési módszerek áttekintését követően, célkitűzéseimmel összhangban elemeztem és értékelttem a mikrobiológiai kockázatelemzés módszertanát. Ezen témakörön belül, annak érdekében, hogy megismerjem és ismertessem a kockázatbecsléses eljárás nemzetközi alkalmazásait, behatóan tanulmányoztam a mikrobiológiai kockázatbecslés kvalitatív és kvantitatív módszereit.

Annak ellenére, hogy az irodalmi áttekintésben kitértem a nemzetközi és nemzeti szinten elvégzett kockázatbecslési folyamatokra, kísérleteim tervezésekor a közvetlen ipari alkalmazhatóság megvalósítása volt a fő szempont.

Az élelmiszeripar egy rendkívül dinamikusan fejlődő ágazatában, az alkoholmentes italok gyártástechnológiájában végeztem kutatásokat. A területen belül részletesen vizsgáltam az aszeptikus PET töltés technológiáját, amely az italipar egyik legújabb fejlesztési irányvonalát képviseli. A gyártástechnológiát alapvetően meghatározó két folyamatlépésben – vízkezelés (*első kísérletsorozat*) és a PET palackok vegyszeres úton történő dekontaminálásakor (*második kísérletsorozat*) – egy kísérleti üzemben vizsgáltam a fellépő mikrobiológiai veszélyekből fakadó kockázati szinteket.

Szintén a célkitűzésekben megfogalmazottakkal összhangban, az élelmiszerbiztonságon túl, az élelmiszerminőség egyéb mikrobiológiai paramétereit állítottam vizsgálataim középpontjába, annak érdekében, hogy az iparban végbemenő döntés-támogató folyamatokban alkalmazandó kockázatbecslési eljárás szükségességét, és hasznosságát bebizonyítsam.

Ennek megfelelően az első kísérletsorozatban, a coliform csoport egyik legellenállóbb tagjának, a *Klebsiella oxytoca*-nak detektálási valószínűségét modelleztem, a kockázatbecslés végpontjának tekintett (*víz minta coliform tartalma $\geq 1\text{cfu}/250\text{ ml}$*) határértéknek megfelelően, miközben az iparban általánosan alkalmazott klórozásos vízkezelési technológia hatékonyságát egy vegyszeres pusztulási kísérlettel erősítettem meg. A túlélési kockázat matematikai modellezését a pusztulás-kinetikai paraméterek meghatározása, a tartózkodási időeloszlások figyelembevétele, valamint a bemenő fertőzőtségi szint ingadozásának becslése alapján Monte-Carlo szimulációs eljárással

végeztem. A modellt a kísérleti üzemben történt, 180 napon keresztül végzett mérés sorozattal validáltuk.

A *Klebsiella oxytoca* kimutatás valószínűségére vonatkozó számított értékek és a tapasztalati gyakoriság között jónak mondható lineáris összefüggést kaptam, melynek determinációs együtthatója: $R^2 = 0,905$.

A második kísérletsorozatban az aszeptikus töltést megelőző PET palackok vegyszeres dekontaminálási folyamatából származó romlási kockázatot modelleztem. A kísérletben olyan mikroorganizmus törzseket alkalmaztam, melyek fontossága az alkoholmentes italok gyártástechnológiájában egyértelműen bizonyított.

A befertőzött PET palackokat üzemi kísérletekben fertőtlenítettük és a PET palackok fertőzési valószínűségét határoztam meg a kiindulási kontamináció függvényében. A modellezéskor a bemenő paraméterek valószínűségi változóiból eredő ingadozást a Monte-Carlo módszer segítségével vettem figyelmbe és összehasonlítottam a mikrobapusztulás kinetikájából számítható elméleti értékkel.

Javaslatot tettem a PET palackok vegyszeres kezelésének hatékonyságát mutató mikrobiológiai határérték meghatározására.

Új tudományos eredmények:

- A rendelkezésre álló kockázatbecslési módszerek alkalmazhatóságát, valamint szerepüket a döntési folyamatokban, üzemi kísérletekkel bizonyítottam.
- A mikrobiológiai kockázatbecslés területén megvizsgáltam a Monte-Carlo módszer alkalmazhatóságát, és annak előnyeit hosszabb időtartamú üzemi perióduson keresztül igazoltam.
- Előrejelzési modellt készítettem a mikrobiológiai minőséget meghatározó paraméterekre.
- Értelmeztem a Monte-Carlo és az elméleti modell közötti különbséget, mely nagy sejtszámnál (dózis) jelentősnek adódott.
- Meghatároztam az aszeptikus PET technológiában megengedett selejtaránynak megfelelő, palackra vonatkozó kiindulási mikrobiológiai határértéket.

A disszertáció témájához kapcsolódó saját publikációk listája

I. Folyóiratcikkek

1. Impakt faktoros folyóiratcikk

Dióspatonyi I., **Syposs Z.**- Viczián Zs., Kollár G. Láng-Lázi M. (2000): Quality assurance aspects in biochemical and chemical information technology. Computers and Chemical Engineering 24 pp. 1031-1036.

Kollár G., Viczián Zs., **Syposs Z.**, Füstös Zs., Dióspatonyi I. (2000): Quality assurance, information technology and bioindustry. Hungarian Journal of Industrial Chemistry. Veszprém, Vol. 28. pp. 317-320.

Kollár G., **Syposs Z.**, Viczián G., Mészáros L., Kollár-Hunek K. (2001): Quality Management System as a tool of process control for food and agri industries. Hungarian Journal of Industrial Chemistry. Veszprém, Vol. 29. pp. 135-138.

Z. Syposs, O. Reichart, L. Mészáros (2003): Microbiological risk assessment in the beverage industry. Food Control-Elsevier Sciences Publishers. Jóváhagyott folyóiratcikk. Megjelenés várható időpontja: 2003 szeptember.

2. Nem impakt faktoros folyóiratcikk

Kollár G., Füstös Zs., **Syposs Z.**, Viczián Zs. (1999): A minőségbiztosítás hatása a posztharveszt műveletekre. Új Kertgazdaság, 31/4. Budapest p. 128-130.

Kollár G., Füstös Zs., **Syposs Z.**, Viczián Zs. (1999): A minőségbiztosítás hatása a "posztharveszt" műveletekre. Mag Kutatás, Termesztés, Kereskedelem, XIII. Nr.6. p.29-30.

Syposs Z., Kollár G. (2000): Minőségbiztosítási és élelmiszerbiztonsági rendszerek. Új Kertgazdaság. 32/1. pp. 48-52.

Syposs Z. (2000): A minőségügyi felülvizsgálat (audit) gyakorlatban alkalmazott szintjei. Ásványvíz Üdítőital Gyümölcslé Budapest, I. 1. p. 21-22.

Syposs Z. (2000): Az új ISO 9001:2000 szabvány felépítése és alkalmazási sajátosságai az élelmiszeriparban. Ásványvíz Üdítőital Gyümölcslé Budapest, I. 2. p. 53-54.

Syposs Z., Lakner Z. (2000): A magyar élelmiszergazdaság minőségi kihívásai a globalizálódó világban. Ásványvíz Üdítőital Gyümölcslé Budapest, I. 3. p. 63-69.

II. Konferenciakiadványok

1. Magyar nyelvű (full paper)

Syposs Z. (2001): A kockázatelemzés módszertana a HACCP – Élelmiszerbiztonsági Rendszer – alkalmazásának tükrében Hungalimentária 2001., Budapest, P 15.

2. Magyar nyelvű (abstract)

Kollár G., Viczián Zs., Füstös Zs., **Syposs Z.** (1999): Minőségbiztosítás és informatika. Műszaki Kémiai Napok kiadványa. Veszprém, p. 105.

3. Nemzetközi konferencia (full paper)

Z. Syposs, Z. Lakner (2000): The Role of Quality Certification in the European Market. The effect of quality strategy on competitiveness in the Hungarian Food Chain. 44th EOQ International Congress Budapest, Hungary. pp 419-433.

Kollár G., Viczián G., **Syposs Z.**, Mészáros L., Hunek K. (2001): Postharvest aspects in Quality Management System engineering for fruit and vegetable production. Proceedings of 6th International Symposium on Fruit, Nut, and Vegetable Production Engineering, Potsdam. pp. 351-357.

Z. Syposs, G. Kollár (2001): Applied Risk Assessment Methods in the Food Industry. 45th EOQ Congress 19-21 September 2001. Istanbul, Turkey. D3 pp.1-8.

Z. Syposs, G. Kollár (2002): Microbiological risk assessment in the beverage industry. Fifth International Food Safety and HACCP Conference, Noordwijk, the Netherlands. Lectures pp. 37-38.

4. Nemzetközi konferencia (abstract)

Z. Syposs, M. Erdélyi (1999): DNV experiences on independent industrial HACCP self assessment in Hungary. Third International Food Safety and HACCP Conference, Noordwijk, the Netherlands. P5. pp. 50.

M. Erdélyi, L. Lelik, **Z. Syposs** (1999): Sensory and analytical tests on recyclable bottles (PRB) used for saturated soft drinks. Third International Food Safety and HACCP Conference, Noordwijk, the Netherlands. P10. pp. 57-58.

Z. Syposs (2000): DNV experiences on supplier chain auditing in Hungary. Food Hygiene Europe 2000 Conference, Amsterdam, the Netherlands. P4. pp.68.

Kollár G., **Syposs Z.** (2000): A minőségbiztosítási és élelmiszerbiztonsági integrált rendszerek felülvizsgálatának és tanúsításának tapasztalatai. Lippay János-Vas Károly Tudományos ülészak összefoglalói. Szent István Egyetem Budai Campus Kiadványai. Bp. pp.116-117.

Z. Syposs, J. Tornai-Lehoczki (2003): Application of acidified (pH 4,5) Linden Grain Medium as a microbiological validation tool in the Aseptic Beverage PET Technology. 23rd International Specialised Symposium on Yeasts, Budapest, Hungary. Jóváhagyott absztrakt a konferencia kiadványban. Megjelenés várható időpontja: 2003 augusztus.