



Élelmiszertudományi Kar

Doktori értekezés

**Pulzáló elektromos térerő és nagy hidrosztatikai nyomás
alkalmazása gyümölcslevek kíméletes tartósítására**

Készítette:
Hartyáni Piroska

Témavezető:
Dr. Cserhalmi Zsuzsanna, PhD

Készült a Központi Környezet- és Élelmiszer-tudományi Kutatóintézet
Technológiai és Élelmiszerlánc vizsgálati Osztályán

Budapest
2012

A doktori iskola

megnevezése: Élelmiszertudományi Doktori Iskola

tudományága: Élelmiszertudományok

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

Témavezető: Dr. Cserhalmi Zsuzsanna
mb. osztályvezető, PhD
Központi Környezet- és Élelmiszer-tudományi
Kutatóintézet
Technológiai és Élelmiszerlánc vizsgálati Osztály
Budapest

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 2012 október 2-ki határozatában a nyilvános vita lefolytatására az alábbi bíráló Bizottságot jelölte ki:

BÍRÁLÓ BIZOTTSÁG:

Elnöke

Fekete András, DSc

Tagjai

Stefanovitsné Bányai Éva, DSc

Véha Antal, CSc

Daood Hussein, CSc

Jánosi Anna, PhD

Opponensek

Farkas József, MHAS

Halász Anna, DSc

Titkár

Jánosi Anna, PhD

TARTALOMJEGYZÉK

TARTALOMJEGYZÉK	1
1. BEVEZETÉS	5
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	7
2.1. Új technológiák megjelenése, tudatos fogyasztók	7
2.2. Gyümölcslevekre vonatkozó fogyasztási szokások	9
2.3. Az <i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> spp.megjelenése gyümölcslevekben	9
2.3.1. Az <i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> jelentősége élelmiszeripari szempontból	10
2.3.2. Az <i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> szaporodásának gátlása és inaktiválására irányuló kísérletek	10
2.4. Pulzáló elektromos térerő alkalmazása	11
2.4.1. A PEF technológia bemutatása, működési elve	12
2.4.2. A PEF mikroorganizmusokra gyakorolt hatása	15
2.4.3. PEF kezelés fiziko-kémiai és színre gyakorolt hatása gyümölcslevek esetén	17
2.4.4. PEF kezelés szerves savakra és illékony aromakomponensekre gyakorolt hatása	18
2.4.5. A PEF kezelés összfenol tartalom és gyökfogó képességére gyakorolt hatása	19
2.4.6. Kombinált hő és pulzáló elektromos térerő alkalmazása	20
2.5. Nagy hidrosztatikai nyomású technológia	21
2.5.1. HHP kezelés fiziko-kémiai paraméterekre és színre gyakorolt hatása	23
2.5.2. HHP kezelés szerves savakra és illékony aromakomponensekre gyakorolt hatása	23
2.5.3. A HHP kezelés összfenol tartalmára és gyökfogó képességére gyakorolt hatása	24
2.5.4. Kombinált hő-és nagy hidrosztatikai nyomású technológia alkalmazása	25
2.5.5. HHP kezelés mikrobákra kifejtett hatása, különös tekintettel az <i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> esetén	26
2.6. Kémiai érzékelősorok élelmiszeripari alkalmazása	26
2.6.1. Az <i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> vizsgálata elektronikus orr segítségével	28
2.6.2. Alkalmazott többváltozós statisztikai módszerek	29
Főkomponens analízis (PCA)	29
Diszkriminancia analízis	29
2.7. Szakirodalmi eredmények értékelése, célkitűzések	30
3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	33
3.1. Gyümölcs alapanyagok	33
3.1.1. Mintaelőkészítés	33
3.2. Beoltatlan gyümölcslevek PEF kezelése OSU-4B típusú szakaszos üzemű PEF berendezéssel	34
3.3. Gyümölcslevek nagy hidrosztatikai nyomású kezelése	35
3.4. <i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> mikroorganizmussal beoltott alma-és narancslé mérésre történő előkészítése	36
3.4.1. Baktérium törzs és a növekedéshez szükséges médium	36
3.4.2. A gyümölcslébe beoltott <i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> adaptációs ideje	37
3.5. <i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> mikroorganizmussal beoltott alma-és narancslé nagy hidrosztatikai nyomású kezelése	38
3.6. <i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> mikroorganizmussal beoltott alma-és narancslé pulzáló elektromos térerővel történő kezelése	40
3.7. Gyümölcslevek hőkezelése	42

3.8.	A mérések során alkalmazott módszerek	43
3.8.1.	Gyümölcslevek fiziko-kémiai mérése	43
3.8.2.	Műszeres színmérés	43
3.8.3.	Szerves savak vizsgálata	44
3.8.4.	Illékony aroma komponensek vizsgálata	44
3.8.5.	Elektronikus nyelv és orr alkalmazása	45
3.8.5.1.	Ízkomponensek változásának mérése elektronikus nyelven	46
3.8.5.2.	Illékony aroma komponensek vizsgálata elektronikus orr segítségével	47
3.8.5.3.	Elektronikus orr „drift” kompenzációs modellje	48
3.8.6.	Az <i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> mikroorganizmussal beoltott, majd PEF és HHP kezelt gyümölcslevek mikrobiológiai analízise	49
3.8.7.	Összfenol tartalom meghatározása	50
3.8.8.	Gyökfogó kapacitás meghatározása	50
4.	EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK	51
4.1.	Fiziko-kémiai tulajdonságok	51
4.1.1.	Beoltatlan citruslevek PEF – és HHP kezelés utáni fiziko-kémiai tulajdonságai	51
4.1.2.	<i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> mikroorganizmussal beoltott alma – és narancslé PEF – illetve HHP kezelést követő fiziko-kémiai tulajdonságai	53
4.2.	Egyes színtkomponensek változása a kezelési paraméterek függvényében a tárolási idő előrehaladtával	55
4.3.	Szerves savak vizsgálata beoltatlan kontroll, PEF és HHP kezelt gyümölcslevek (narancs, grépfrút, mandarin) esetében	61
4.4.	Illékony aromakomponensek vizsgálata beoltatlan kontroll, PEF és HHP kezelt gyümölcslevek (narancs, grépfrút, mandarin) esetében	62
4.5.	Elektronikus orr- és nyelv segítségével végzett mérések eredményei	65
4.5.1.	Beoltatlan citruslevek (narancs, grépfrút, mandarin) PEF-és HHP kezelése utáni ízkomponensek változásának mérése elektronikus nyelvvvel, illetve illékony komponensek vizsgálata elektronikus orr segítségével	65
4.5.2.	<i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> mikroorganizmussal beoltott alma- és narancslé PEF-és HHP kezelése utáni elektronikus orr vizsgálatok	69
4.5.2.1.	Az <i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> mikroorganizmussal beoltott HHP kezelt alma- és narancslé elektronikus orr mérései	70
4.5.2.2.	Az <i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> mikroorganizmussal beoltott PEF kezelt alma- és narancslé elektronikus orr mérései	74
4.6.	Gyümölcslevek mikrobiológiai eredményei	79
4.6.1.	<i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> mikroorganizmussal beoltott gyümölcslevek HHP kezelését követően elért inaktiváció	79
4.6.2.	<i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> mikroorganizmussal beoltott gyümölcslevek PEF kezelését követően elért inaktiváció	82
4.7.	Gyökfogó kapacitás és összfenol tartalom vizsgálata	88
5.	ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK, TÉZISEK	93
6.	JAVASLATOK	95
7.	ÖSSZEFOGLALÁS	97
8.	SUMMARY	103

MELLÉKLETEK

M1 IRODALOMJEGYZÉK		109
M2. Melléklet	A citruslevek PEF és HHP kezelése után mért egyes színekkomponensek eredményei	125
M3. Melléklet	<i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> mikroorganizmussal beoltott narancslé fiziko-kémiai paraméterei HHP kezelés esetén a tárolási idő előrehaladtával	126
M4. Melléklet	Illékony aromakomponensek számszerűsített adatai kontroll, PEF és HHP kezelt gyümölcslevek (narancs, grépfrút, mandarin) esetében	127
M5. Melléklet	PEF kezelt gyümölcslevek elektronikus orr szenzor jelválaszainak értékelése PCA módszerrel, a gyümölcsle típusa alapján történő elválasztás esetén	127
M6. Melléklet	PEF kezelt gyümölcslevek elektronikus orr szenzor jelválaszainak értékelése CDA módszerrel az adatok kezelési hőmérsékletet szerinti csoportosítása esetén	128
M7. Melléklet	PEF kezelt gyümölcslevek elektronikus orr szenzor jelválaszainak értékelése CDA módszerrel az adatok tárolási idő szerinti csoportosítása esetén	129
M8. Melléklet	PEF kezelt gyümölcslevek elektronikus orr szenzor jelválaszainak értékelése CDA módszerrel az adatok különböző térerő intenzitás szerinti csoportosítása esetén	130

KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

131

1 BEVEZETÉS

Napjainkban egyre jobban előtérbe kerülnek azon kutatások, amelyek a táplálkozással összefüggő betegségeket vizsgálják. A humán táplálkozás-tudományi kutatások mindinkább bebizonyították, hogy egy olyan jól kiegyensúlyozott diéta, amely gazdag gyümölcsökben és zöldségekben, az egészséget szolgálják és számos betegség kialakulásának kockázatát is csökkentik. Ebből adódóan a kiegyensúlyozott táplálkozásra vonatkozó ajánlásoknak tartalmaznia kell friss zöldségek és gyümölcsök fogyasztását, amely fordított összefüggést mutat számos krónikus megbetegedés, többek között a szív- és érrendszeri, valamint egyes daganatos megbetegedések kialakulásának kockázatával. Így nemcsak a zöldségek és gyümölcsök, de az ezekből készült levek fogyasztása is hatékony védelmet jelenthet számos krónikus betegség kialakulásával szemben, a bennük található antioxidánsoknak és feltételezhető következményes genetikai hatásoknak is köszönhetően - csökkentik a rákbetegségek kialakulásának és szív-érrendszeri megbetegedéseknek kockázatát.

A gyümölcslevelek fogyasztása tehát kiemelt jelentőségű, ebből adódóan a feldolgozási technológiák alkalmazásánál nagy figyelmet kell fordítani annak minél kíméletesebb mivoltára, hogy ezek a kedvező tulajdonságok a feldolgozást követően is megmaradjanak.

A hagyományos hőkezelés ugyan biztosítja a gyümölcslevelek mikrobiológiai biztonságát és megnöveli azok eltarthatósági idejét, azonban kedvezőtlen változásokat eredményezhet mind az élelmiszer tápértéke, mind az olyan érzékszervi tulajdonságok szempontjából, mint a szín, állomány és íz (CORTÉS et al. 2008; AGUILÓ-AGUAYO et al. 2009). A hőkezelés során esetlegesen fellépő kedvezőtlen mellékhatások elkerülése céljából az elmúlt évtizedekben a kíméletes, nem hőkezeléssel alapuló élelmiszertartósítási technológiák növekvő figyelmet kaptak. A friss jellegű termékek iránt megnövekedett fogyasztói elvárások is olyan új környezetbarát, kíméletes tartósítási technikákkal foglalkozó kutatásokat eredményeztek, amelyek alkalmazása során minimális vitamin – és ízvesztés lép fel (MERTENS, KNORR 1992).

A kíméletes tartósítási technológiák két, nemzetközileg széles körben kutatott képviselője a pulzáló elektromos térerő (PEF) és a nagy hidrosztatikai nyomású technológia (HHP).

Doktori munkámban ezért e két tartósítási eljárás alkalmazásának vizsgálatát tűztam ki célul gyümölcslevelek esetén a beltartalmi és egyéb minőségjellemzőinek mérésével, amelyek elvégzéséhez a legkorszerűbb analitikai módszereket alkalmaztam. Így például citruslevelek (narancslé, grépfrútlé, mandarinlé) kezelése után, az illékony aromakomponensek meghatározásához a gázkromatográfia-tömegspektrometriás (GC-MS) analízist, a szerves sav

zavarosságát okozza, ülepedést előidézve, gvajakolt termelve. Így a baktériummal beoltott alma – és narancslé kezelését követően vizsgáltam a fiziko-kémiai és színparaméterek változását és meghatároztam a túlélő mikroorganizmusok számát. A kiválasztott kombinált kezeléseket követően hőkezelést végeztem a spórák és vegetatív sejtek arányának meghatározása céljából. A kezelésekből adódó esetleges aromaváltozások nyomonkövetésére elektronikus orrt alkalmaztam.

2 IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1 Új technológiák megjelenése, tudatos fogyasztók

A fogyasztói elvárások – a biztonságos és egészséges táplálkozást szolgáló technológiák mellett – egyre inkább megfogalmazzák azokat a kívánalmakat, amelyek a minimálisan feldolgozott (szaknyelvi irodalomban „minimally processed”, „mild, novel technology”-ként ismert), ezáltal tápértéküket jobban megőrző, magasabb hozzáadott értékű, valamint energiatakarékos és környezeti terhelést csökkentő technológiák alkalmazását igénylik. Mindezek mellett a nagy mennyiségben előállított élelmiszer nagy távolságokra történő szállítása is szükségessé teszi a hatékony tartósítási technológiák fejlesztését. A tartósítás technológiai fejlődése a tudományos ismereteken alapuló fizikai és kémiai módszereken át a kíméletes technológiáig jutott el (HARTYÁNI et al. 2007)

A kíméletes feldolgozás szót sokféleképpen definiálták, általánosságban „a lehető legkisebb mértékű kezeléssel a cél elérésére” (MANVELL 1996). Egy pontosabb meghatározás szerint, amely a kezelendő terméket helyezi előtérbe, a következőképpen hangzik: „a minimál kezelések olyan műveletek, amelyek az élelmiszerek minőségi jellemzőit minimálisan befolyásolják, mialatt egyidejűleg a tárolás és szállítás során az élelmiszer eltarthatósági ideje megfelelő marad” (HUIS IN’T VELD 1996). Egy még ennél is pontosabb meghatározás szerint olyan technikáknak írja le ezen műveleteket, amelyek „tartósítják az élelmiszert, mialatt annak tápértéke és érzékszervi tulajdonságai fennmaradnak, csökkentve így a hőkezelés-, mint fő tartósítási eljárás- mellékhatásait” (FELLOWS 2000). Ezért aztán a minimál kezeléseket úgy is tekinthetjük, mint az élelmiszer feldolgozás hagyományos módját az eltarthatósági idő megnövelése céljából. Ugyanakkor mindaz az előny, ami a megnövekedett eltarthatósági idővel együtt jár, a fogyasztók részéről számos aggodalmat vált ki a tartósításra használt szintetikus adalékanyagok használatával kapcsolatban és olyan tulajdonságokra fekteti a hangsúlyt, mint például a termék színe és ízvilága (BRUHN 2000).

Az élelmiszerek hosszabb eltarthatósági idejére gondolva a hőkezelési tartósítási eljárás az egyik legelterjedtebb technológia, amelyet önmagában illetve kémiai és biokémiai tartósítási eljárásokkal kiegészítve alkalmaznak.

A hőkezelés a termék frissességét és minőségét ronthatja, és olyan nemkívánatos folyamatok játszódhatnak le, mint például a fehérjedenaturáció, keményítő duzzadása, az élelmiszer puhulása, az illékony aromakomponensek, a vitaminok és ásványi anyagok csökkenése, a biopolimerek hőkezelés következtében megjelenő reakció termékeinek megjelenése és íz-, illat romlás (OHLSSON et al. 2002). A hőkezeléssel járó előnyök és hátrányok

figyelembevétele mellett a korszerű igények szem előtt tartásával a jelen élelmiszeripari szakembereinek célja a minél kíméletesebb élelmiszer tartósítási technológiák kifejlesztése, amelyek alkalmazásával a – hőkezelés elkerülésével – a frissesség megőrzése mellett a mikroorganizmusok inaktiválása is megvalósul.

Egy új élelmiszeripari technológia bevezetésénél a fogyasztói vélemények kiemelkedő szerepet játszanak (LYNDHURST 2009). A médiában is minél inkább előtérbe kerülő egészségmegőrzés fontossága létrehozta a fogyasztók egy új csoportját, a tudatos fogyasztókat, akik a kapott információk alapján szeretnék a számukra leginkább megfelelő élelmiszereket kiválasztani. Ismereteiket számos felmérésen keresztül is bővíthetik, így a fogyasztók és leendő vásárlók az új technológiákról véleményt formálnak. Véleményük hallatása oly mértékű lehet, hogy még egy technológia bevezetését is befolyásolhatják, gondoljunk csak a besugárzási technológiára, melynek lassú bevezetését, globális terjedését főként pszichológiai tényezők okozzák amellet, hogy „politikailag is érzékeny terület”. Emiatt az egészségügyi engedélyezés kiemelt körütekintést igényel és gyakran irracionális aggodalmak miatt gátolt (BÁNÁTI, FARKAS 2010).

A jogalkotók, kereskedelembe dolgozók, és a gyártók is egyre inkább figyelnek a fogyasztókra (OLSEN et al 2010). A pulzáló elektromos térerővel – és a nagy hidrosztatikai nyomással kezelt élelmiszerek fogyasztói elfogadásával kapcsolatban számos tanulmány született. A fogyasztók meggyőződése szerint a HHP – és PEF kezelt termékek jóval drágábbak és általánosságban nem hajlandók jelentős felárat azért fizetni (BUTZ et al 2003). CARDELLO és munkatársai (2007) kutatásukban megállapították, hogy a technológiákkal kapcsolatos vélt kockázatok jelentették a legfontosabb tényezőt a technológia alkalmazásában. Kutatásukban azt is megállapították, miszerint a HHP kezelt termékeket inkább elfogadták, mint a PEF kezelt termékeket, amelyhez több negatív attitűd társult, viszont számos előnyét elfogadták, habár sok esetben a fogyasztók bizonytalannak tűntek a kockázat kapcsán (BUTZ et al 2003, CARDELLO et al 2007, NIELSEN et al 2009).

A Központi Élelmiszer-tudományi Kutatóintézet is bekapcsolódott az új „novel” technológiákkal foglalkozó nemzetközi FP6-os NovelQ projektbe, amelynek elnevezése „Novel Processing Methods for the Production and Distribution of High-Quality and Safe Foods”, azaz „Új előállítási módszerek biztonságos és kiváló minőségű élelmiszerek előállítása és elterjesztése érdekében”. Az intézet egyik szerepvállalásaként fogyasztói tanulmányokat végzett az új technológiákkal kezelt élelmiszerekkel kapcsolatos attitűdök vizsgálatára. Kutatásukban példaként említve, bemutatták a nagy hidrosztatikai nyomású technológiával kezelt zöldség-gyümölcslevek érzékszervi vizsgálatait (BÁNÁTI et al. 2012).

2.2 Gyümölcslevekre vonatkozó fogyasztási szokások

Az érzékszervi tulajdonságok egyedülálló kombinációinak köszönhetően, úgy mint szín, aroma, ízvilág, valamint tápértékének köszönhetően, a narancslé a világ egyik legkedveltebb gyümölcsleve, amely a gyümölcs- és gyümölcs alapú italok fogyasztásának 60 %-át teszik ki Nyugat Európai viszonylatban (FRY et al 1995). Ezt a fogyasztási mennyiséget körülbelül 5 milliárd literre becsülik az Európai Unióban. Alacsony pH értéke ellenére a friss narancslé stabilitása inkább limitáltnak mondható a mikrobák szaporodását és enzimaktivitási szempontokat figyelembe véve.

A magyarországi gyümölcsléfogyasztási adatokat tekintve megállapítható, hogy fogyasztási adatokban eltérés adódhat a gyümölcstartalomnak és árának köszönhetően. KISS és munkatársai (2007) megállapították, miszerint 2003 óta folyamatosan növekszik az elfogyasztott mennyiség. A 100% gyümölcslevek tekintetében 1998-ban 3,2 l/fő/év mennyiségről 2007-ben 4,8 l/fő/év mennyiségre nőtt ez az érték.

2.3. Az *Alicyclobacillus acidoterrestris* spp.megjelenése gyümölcslevekben

A korai 1980-as évek gyümölcslégyártása egy olyan lé romlási problémával szembesült, amelyet egy a hosszú eltarthatósági idejű termékekben fellelhető baktérium növekedése okozott, nevezetesen eredeti nevén a *Bacillus acidoterrestris* (CERNY et al. 1984; DEINHARD et al. 1987), amelyet későbbiekben *Alicyclobacillus*ként definiáltak majd új nemzetségbe soroltak, és nevét *Alicyclobacillus* -ra változtatták. (LEE et al. 2002). A mikroorganizmus által okozott romlás bekövetkezhet almalében és más gyümölcslevekben egyaránt, de akár teákban, illetve gyógynövény tartalmú italokban is (SPLITTSTOESSER et al. 1998; WISSE, PARISH 1998), enyhe lé zavarosság formájában és kellemetlen illat megjelenésével párosulva (BROWN 1995). A kellemetlen illat a 2-metoxifenol, más néven gvajakol (YAMAZAKI et al. 1996), illetve a 2,6 brómfenol (BORLINGHAUS, ENGEL 1997) és a 2,6- diklórfenol (JENSEN, WHITFIELD 2003) termelődésének köszönhető. A baktérium okozta jól érzékelhető antiszeptikus- vagy gyógyszer mellékilletet többféle vegyületnek is tulajdonították már, köztük a halogénezett fenoloknak, így a 2,6-dibróm-fenolnak (DBP), illetve 2,6-diklór-fenolnak (DCP). Az elmúlt évek kutatásai azonban nyilvánvalóvá tették, hogy a gvajakol az a túlnyomó többségben lévő anyagcseretermék, ami az idegen szagelváltozásért felelős (CERNY et al. 1984; ORR et al. 2000).

Az *Alicyclobacillus acidoterrestris* termoacidofil, nem patogén spóráképző baktérium. Gram pozitív és számára aerob körülményeket biztosítva ovális endospórát képezhet. Növekedési határai pH 2,5 és pH 6, illetve 25-60 °C között változik (SILVA et al. 1999; SAVAŞ-BAHÇECİ, ACAR 2007). Vegetatív sejtjeinek szaporodási ciklusa gyors, exponenciális

maximumukat optimális pH-n 8-12 óra alatt elérik. 5% (v/v) NaCl koncentráció felett szaporodni nem képes (SPLITTSTOESSER et al. 1994).

2.3.1. Az *Alicyclobacillus acidoterrestris* jelentősége élelmiszeripari szempontból

Manapság a fogyasztók részéről egyre inkább megmutatkozik a termék minőségével kapcsolatban érzett félelem. A fogyasztók egyre inkább tudatában vannak annak, hogy milyen minőségi tulajdonságokkal kell bírnia az élelmiszernek, amelyek az egyre növekvő elvárásaikban is megjelennek. Az élelmiszerek fogyasztói elutasításának az egyik leggyakoribb oka a kellemetlen íz és évről évre az élelmiszeripar panaszos visszajelzéseket kap a fogyasztóktól a kellemetlen mellékillet vonatkozásában, amely a friss, kezelt és csomagolt termékek esetén jelentkezik. A modern élelmiszeripar és a termékek nemzetközi disztribúciójának széles spektrumában már kis számú élő mikroorganizmus megjelenése is lehetővé teszi nagy mennyiségű gyümölcslevek befertőzését, így számos anyagi veszteséget jelentve azzal az előállítóknak.

A gyümölcsleves iparágon belül mindinkább égető problémává nőtte ki magát az *Alicyclobacillus acidoterrestris* sp. megjelenése, amely kedvezőtlenül teszi az érzékszervi tulajdonságokat, következésképpen élelmiszerbiztonsági és gazdasági károkat is okoz ezzel.

Az *A. acidoterrestris* gyümölcslevekben gyorsan szaporodik, azonban gyümölcsleves koncentrátumokban nem képes szaporodásra, hanem elsősorban spóra formájában fordul elő, viszont visszahígítás után a hőkezelést túlélő spórák gondot jelentenek. A spórákat is elpusztítani képes hőkezelés azonban károsíthatja a gyümölcsleves-koncentrátum tápértékét és érzékszervi minőségét (BEVILACQUA et al. 2008). A mikroorganizmus szaporodásából adódó romlás szabad szemmel nem érzékelhető, a gyümölcslevekben általában jellegzetes gyógyszerillatot okoz. A mikroorganizmus szaporodásának következtében nem termelődik gáz, vagy üledék (SILVA et al. 1999).

2.3.2. Az *Alicyclobacillus acidoterrestris* szaporodásának gátlása és inaktiválására irányuló kísérletek

YAMAZAKI és munkatársai (2000) kísérleteztek alacsony pH-jú gyümölcslevekben nizinrel történő kezeléssel, mivel a nizin gátló hatással van a Gram pozitív spóráképző baktériumok csírázására és szaporodására. Tapasztalatuk szerint az *Alicyclobacillus acidoterrestris* törzsek nizin érzékenysége változó, almalevekben pedig a nizin hatása csekélynek bizonyult.

Számos kutató tanulmányozta a nagy hidrosztatikai nyomású technológia *Alicyclobacillus acidoterrestris*re kifejtett hatását. Ezek közül ALPAS és munkatársai (2003) a vegetatív

sejteknél 2-3 nagyságrendnyi csökkenést tudtak elérni 350 és 450MPa közötti nyomás alkalmazásával.

A HHP technológia *Alicyclobacillus acidoterrestris* inaktiválására vonatkozó hatékonyságával illetve annak spóráira kifejtett hatásával hőkezelés alkalmazása mellett, továbbá a kombinált kezelési lehetőségekkel is számos tanulmány foglalkozott (LEE et al. 2002; LEE et al. 2006; SILVA et al. 1999). Megfigyelték, hogy az *Alicyclobacillus acidoterrestris* kereskedelmi forgalomban kapható almalevekbe szuszpendált spórái sikeresen inaktiválódtak, amennyiben a nagy hidrosztatikai nyomású kezelést hőkezeléssel kombinálták. A mérések során a következőket tapasztalták: 207 MPa nyomás 45 °C-on történő 10 percig tartó HHP kezeléssel 3,5 log nagyságrendű csökkenést értek el. Abban az esetben, ha megemelték a paramétereket, tehát jelen esetben 621 MPa nyomáson 71 °C-on történő 1 perces kezelési idő mellett 4 log nagyságrendű mikrobaszám csökkenést értek el, míg ha az ímént említett értékekben a kezelési időt 10 percre emelték, úgy már 5,5 log nagyságrend feletti inaktivációról számoltak be a szerzők (LEE et al, 2002).

A PEF kezelés *Alicyclobacillus acidoterrestris* mikroorganizmusra gyakorolt hatását BECZNER és munkatársai (2008) is vizsgálták. Három törzset vontak be a mérésekbe (DSMZ 2498, CCM 4659, CCM4660). Az OSU-4B PEF berendezéssel történő mérések során a törzsek vegetatív sejtjeinek eltérő érzékenységet figyeltek meg a kezeléssel szemben, a két törzs esetében az élő sejtszám szignifikánsan csökkent emelkedő térerő intenzitás függvényében, míg másik esetében nem figyeltek meg csíraszámcsökkenést.

2.4. Pulzáló elektromos térerő alkalmazása

Habár új technológiaként említjük, az elektromosság élelmiszeripari alkalmazásának elgondolása egészen a 19. század végére nyúlik vissza. A technológia kísérleti alkalmazása már az 1920-as évektől megindult, majd némi hanyatlás után újra fejlődésnek indult, már az 1960-as évektől említik a PEF technológia alkalmazását. Az úttörő munkát Heinz Doevenspeck német mérnök végezte, amit aztán Sale és Hamilton kutatása követett az Egyesült Királyságban. Ahogy azt TOEPFL és munkatársai (2005) összefoglaló cikkükben ismertették, az 1980-as években a Krupp Maschinenteknik (Németország) gyárában két rendszert fejlesztettek ki, ELCRACK® és ELSTERIL® néven, mely fejlesztések Doevenspeck és munkatársai kutatásán alapult. A technika ígéretes alkalmazásnak bizonyult például a gyümölcs- és zöldségzövetek előkezelésére extrakció, szárítás, vagy lékinyerés céljából, hal- és húszövetekben az anyagtranszport arány növelésére, továbbá folyékony élelmiszerek mikrobiális fertőtlenítésére, valamint a hulladék kezelésére és víztisztításra egyaránt.

A PEF technológia félüzemi, üzemi megvalósítása kapcsán az elmúlt évtizedekben intenzív diszkusszió alakult ki ennek megtárgyalására, de üzemi gyakorlat szintjén nem került megvalósításra. Üdítőlevek PEF kezelésével kapcsolatos kutatások bizonyították, hogy folyékony élelmiszerek hatékony pasztörözéséhez körülbelül 30-40 kV/cm elektromos térerő intenzitás szükséges. A termék típusától, kísérleti összeállítás, kezelőtér geometriájától, kezelési paraméterektől függően (mint például az impulzus hullám formája, kezelési hőmérséklet) a specifikus energia input a követelményektől függően, 50 kJ/kg-tól egészen több száz kJ/kg mennyiségig emelkedhetnek, de ha enzim inaktivációt is figyelembe vennénk, ez az érték 8000 kJ/kg is lehet (ZHANG et al. 1994, ZHANG et al. 1995; HEINZ et al. 2003; ARONSSON et al. 2005; EVRENDILEK, 2000, TOEPFL et al. 2005).

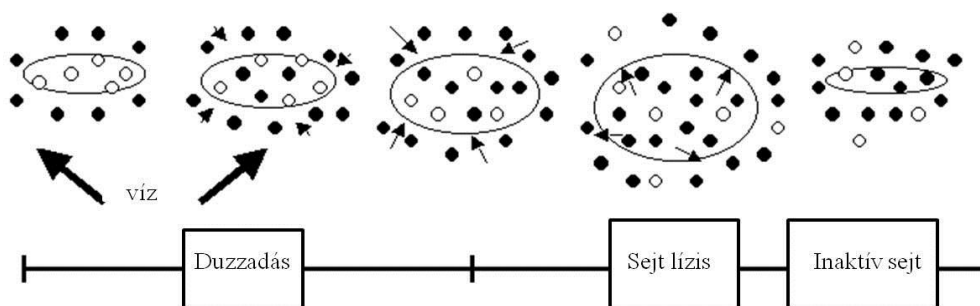
Még nincs nagyüzemi PEF rendszer élelmiszertartósítás céljából, félüzemi berendezések azonban már elérhetők az Ohio Állami Egyetemen (USA), Stork Food and Dairy Systems (Hollandia), SIK (Svédország) és Berlini Műszaki Egyetemen (Németország).

Néhány korlátozó tényezőt is azonban figyelembe kell venni PEF kezelés alkalmazásánál összehasonlítva a hőkezeléssel: A kezelés csak a vegetatív sejtekre hat, spórák és vírusok nem semlegesíthetők a pulzáló elektromos térerővel. A kezelés után aszeptikus csomagolás szükséges.

A PEF technológia alkalmazása során elsődleges kíváncsi a termék eltarthatósági idejének növelése a kedvezőtlen hő-és kémiai hatások kivédése mellett. Előnyeként említhető, hogy azonos tartósító hatás mellett, a kezelés során a hőmérséklet emelkedése lényegesen kisebb mértékű, mint a hagyományos hőkezelés során alkalmazott hőmérséklet. Így elmondható, hogy minimális, vagy nincs is hőkárosító hatása a kezelésnek. Ez is bizonyítja, hogy a kezelés során az élelmiszerek megőrzik friss jelegüket, tápértéküket, kedvező érzékszervi tulajdonságai nem változnak nagymértékben.

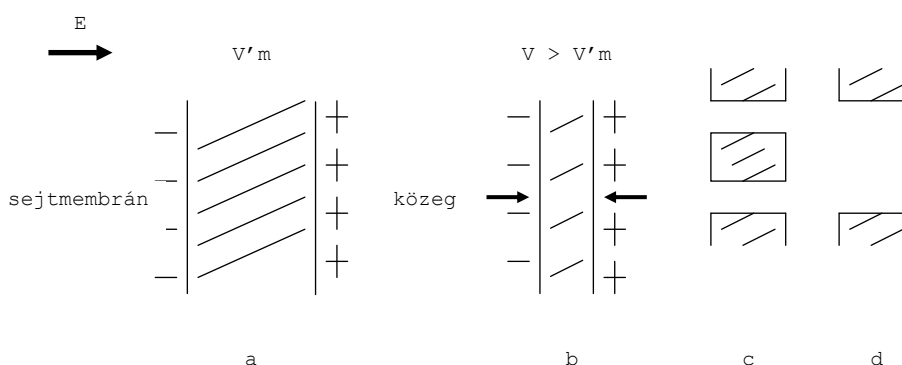
2.4.1. A PEF technológia bemutatása, működési elve

A pulzáló elektromos térerő technológia alapja egy külső elektromos térerő élősejtre gyakorolt hatása, mely térerő két elektróda között jön létre. A kezelés során rövid idejű nagyfeszültségű impulzusokat alkalmazunk, amelynek következtében a sejtmembrán destabilizálódik majd pórusok, likacsok jelennek meg (SALE, HAMILTON 1967; ZIMMERMANN 1986).



1. ábra Egy sejtmembrán elektroporációja (VEGA-MERCADO 1996b)

Ez a folyamat akkor történhet meg, amikor a külső elektromos erőter által indukált transzmembrán feszültség nagyobb, mint a sejtmembránra jellemző kritikus feszültség, melynek értéke 0,7 és 1,1 V feszültség közötti érték (CSERHALMI et al. 2006). Ha az indukált transzmembrán feszültség nagyobb, mint a sejt természetes feszültsége, akkor a sejtmembrán elveszíti szemipermeabilitását (2. ábra). Az elektroporáció egyik fő következménye az a jelenség, amelyet elektropermeabilizációnak nevez a szakirodalom (WOUTERS et al. 2001), azaz a permeabilitásban bekövetkező drasztikus növekedés és néhány esetben a membrán mechanikai összeomlása. Ezt a folyamatot az 1. ábrán látható folyamat is jól szemlélteti. Az áteresztőképesség megváltozása az alkalmazott feszültség függvényében reverzibilis, vagy irreverzibilis lehet. Nagy elektromos térerő alkalmazása visszafordíthatatlan hatásként érvényesül, végsőképpen a sejt halálát, teljes inaktivációt eredményezve (SALE, HAMILTON 1967, ROWAN et al. 2000).



2. ábra A sejtmembrán dielektromos összeomlása

a: sejtmembrán, b: kompresszió, c: pórusok reverzibilis kialakulása, d: pórusok irreverzibilis kialakulása, (ZIMMERMANN 1986)

Amennyiben az élelmiszer tartósítás a célunk, nagyobb feszültséget alkalmazunk, amely biztosan irreverzibilis folyamatot eredményez.

Habár a PEF technika egy nem hőkezelésen alapuló eljárás, a kezelés során kisebb hőmérsékletemelkedés is megfigyelhető, a minta összetételétől és az alkalmazott paraméterektől függően.

PEF kezelés esetén általánosságban véve a laboratóriumi, félüzemi alkalmazás során a következő paraméterek a jellemzők: 2-50 kV feszültség, 0,2-7 cm elektródok közötti távolság, 1-100 kV/cm elektromos térerő intenzitás, illetve 1-120 közötti impulzusszám. Különböző impulzusformákkal dolgozhatunk (exponenciálisan csökkenő és négyszög hullámú uni- és bipoláris impulzusok), amelyeket szélességükkel (1ms-10 ms) és frekvenciájukkal (1-1000 Hz) jellemezhetünk. A kezelések során kiemelt figyelmet kell fordítani a kezelendő termék vezetőképességének, hiszen nagyobb vezetőképességű élelmiszerek esetén azonos hatás eléréséhez nagyobb energia befektetésre van szükségünk.

Az elmúlt évtizedekben a PEF kezelés számos alkalmazási területén vizsgálták, beleértve az élelmiszerektől kezdve a biotechnológián át a gyógyszergyártásig. Továbbá vizsgálták a kezelés biológiai sejtmembránokra (TOEPFL 2005), az élelmiszerek fiziko-kémiai, szín, aroma és érzékszervi tulajdonságaira kifejtett hatását (CSERHALMI et al. 2006; CORTÉS et al. 2008; LEE et al. 2003; SÁNCHEZ et al. 2005) is.

A PEF technológia élelmiszeripari felhasználása az elmúlt évtizedekben egyre nagyobb érdeklődésre tart számot, nem csak mint hőkezelés-mentes új tartósítási eljárás, hanem mint a szárítási hatékonyságot növelő (TAIWO et al. 2002), az enzim aktivitás módosítását (GINER et al. 2002, YEOM et al. 2000a), az intacelluláris metabolit extrakció elősegítését (FINCAN et al. 2004), illetve a növényi rendszerekben és sejt kultúrákban a stressz-reakciók indukálásával a másodlagos metabolit termékek előállítását célzó (GUDERJAN et al. 2005) (SOLIVA-FORTUNY et al. 2009) technológia.

A PEF technológia alkalmazásával elérhető mikrobiológiai inaktiváció számos olyan tényezőtől függ, amik a folyamat végkimenetele szempontjából kritikusnak mondhatók. Maguk a tényezők, amelyek a kezelés hatékonyságát is befolyásolják, a következőképpen osztályozhatók: termékjellemzők (pH érték, antimikrobiális és ionos komponensek jelenléte, vezetőképesség és a közeg ionos jellege), mikrobiológiai tulajdonságok (mikroba típusa, koncentrációja és a mikroorganizmus növekedési fázisa) (GÓMEZ et al. 2005, ZHANG et al. 1995). A folyamatparaméterek pedig a következők lehetnek: alkalmazott térerő intenzitás, impulzus szélesség, impulzusforma, az alkalmazott impulzusok száma és a kiindulási hőmérséklet, áramlási sebesség, specifikus energia input (BARBOSA-CÁNOVAS et al. 1999, HEINZ et al. 1999, WOUTERS et al. 1999, MENESES et al. 2011). A

folyamatparamétereket tovább tárgyalva újabb kritikus tényezővel találjuk szembe magunkat, mégpedig azzal, hogy a kezelőtérben az elektromos térerősség eloszlásának homogénnek kell lennie (FIALA et al. 2001), kerülendő a kezelőtérben egy adott pontra koncentrálódó térerősség, mivel a mikrobiológiai populáció minden egyes sejtjének ugyanazt a kezelést, tehát ugyanakkora intenzitású kezelést kell kapnia. Ennek elérésében meghatározó szerepe van a különböző kezelőtereknek.

A nagyfeszültségű pulzáló elektromos térerő alkalmazására épülő rendszer több egységből áll: áramforrás, nagyfeszültségű generátor, kezelőtér, mintakezelő egység, csomagolóegység. A fő egységek kiegészülnek a kezelőtérhez kapcsolódó hőmérséklet-ellenőrző és a generátorhoz tartozó impulzusszabályozó egységgel. A kezelőtér a berendezés legfontosabb és legbonyolultabb egysége. Felépítésüket tekintve lehetnek statikus és átfolyós rendszerűek. A statikus rendszer általában laboratóriumi PEF berendezéseknél, míg az átfolyós rendszerűek a félüzemi, üzemi berendezéseknél jellemzőek. A kezelőtérben elektród párok helyezkednek el, a legáltalánosabban alkalmazottak a rozsdamentes acélelektrodok. A kezelőtérben elhelyezkedő elektród párok elrendezése lehet párhuzamos lemezek, párhuzamos rudak, koncentrikus hengerek, illetve rudak és lemezek kombinációja. A párhuzamos elrendezésű kezelőtér a legegyszerűbb tervezésű és egyben az elektromos térerő leginkább egységes eloszlása érhető el vele a kezelőtérben (JEYAMKONDAN et al. 1999).

2.4.2. A PEF mikroorganizmusokra gyakorolt hatása

A PEF kezelés mikroorganizmusokra gyakorolt hatását elsőként SALE és HAMILTON (1967) foglalta össze, amikor semleges kémhatású, nátrium-klorid oldatba szuszpendált mikroorganizmusokon végezték a kezelést. Vizsgálatuk során megállapították, hogy a bekövetkező inaktiváció nem a hőhatásnak, sokkal inkább a sejtmembrán funkciójának irreverzibilis változása okozta. Megállapították, hogy az élesztők érzékenyebben reagálnak a kezelésre a vegetatív baktériumokkal összehasonlítva. Az inaktiválást befolyásoló tényezők: az alkalmazott impulzusok száma, szélessége, formája, illetve a kezelendő termék tulajdonságai, mint például pH, vezetőképesség. Mikrobiológiai szempontból a mikroba típusa és mikroba növekedési fázisa is meghatározó lehet még. HÜLSHEGER és munkatársai (1983) ezt úgy fogalmazták meg, miszerint a logaritmus növekedési fázisból származó sejtek jelentős mértékben érzékenyebben reagálnak a PEF kezelésre, mint azok a sejtek, amelyek a stacionárius fázisban vannak. Ezt bizonyítja POTHAKAMURY és munkatársai (1996) vizsgálata, ahol ezt az jelenséget *E.coli* esetében tanulmányozták, ahol szintén a logaritmus fázisban lévő sejtek reagáltak érzékenyebben a lag-, illetve

stacionárius fázisból származó sejteknél. A *Sacharomyces cerevisiae*-vel végzett kísérletek alapján megállapították, hogy a folyamatosan növekvő sejtek PEF kezeléssel szembeni fogékonysága az élesztő sejtek esetében is megfigyelhető volt (JACOB et al. 1981). GASKOVA és munkatársai (1996) ismertették, hogy a logaritmikus fázisban végzett PEF kezelés inaktiválási szempontból 30 % mértékben hatékonyabb, mintha a kezelést a mikroba szaporodásának állandósult fázisában végezték volna.

A PEF kezelés hatásaként elért mikrobiális inaktiváció foka jelentős mértékben függ az alkalmazott térerő intenzitástól (HÜSHELGUER, NIEMANN 1980, DUNNE et al. 1996), specifikus energia input nagyságától, kezelési hőmérséklettől és az élelmiszer- mátrixtól (HEINZ et al. 1999, HEINZ et al. 2003). További kutatások megállapították, a mikroorganizmus inaktiválása szempontjából, hogy a térerősség növelése hatékonyabb, mint a kezelési idő növelése (JAYARAM et al. 1992). Meghatározó tényezőnek számít továbbá az alkalmazott hullám alakja. ZHANG és munkatársai (1994) a négyszöghullám és exponenciálisan csökkenő hullám alkalmazása során fellépő különbségeket vizsgálta almalébe szuszpendált *Saccharomyces cerevisiae* PEF kezelése során. Azt tapasztalták, hogy azonos energia befektetésével végzett PEF kezelés során a négyszöghullám alkalmazása 60 %-kal magasabb inaktivációt eredményezett, összehasonlítva az exponenciálisan csökkenő hullámmal. QIN és munkatársai (1994) szintén *Saccharomyces cerevisiae* inaktiválását vizsgálták, úgy hogy 12 kV/cm térerősséget és 60 J/impulzus energiát alkalmaztak mind négyszöghullám, mind az exponenciálisan csökkenő hullám esetében. Megállapították, hogy ugyan mindkét esetben hatásos volt a kezelés, azonban mértékét tekintve a négyszöghullám volt az eredményesebb.

Az olyan erősen savas kémhatású termékeknél, amelyek pH 4,6-nál alacsonyabb értékűek, a PEF technika alkalmazása különösen ígéretesnek tűnik.

HARRISON és munkatársai (1996) megfigyelték, hogy a *Saccharomyces cerevisiae*-vel beoltott almalé 40 kV/cm térerő intenzitással történő PEF kezelése a mikroba túlélő sejtszámát 3 log nagysággal csökkentette. Ezt erősítette meg VEGA-MERCADO és munkatársai (1997) kutatása is. CSERHALMI és munkatársai (2002) 4 log nagyságú csökkenést mutattak ki a *S. cerevisiae* túlélő csíraszámában almalé esetében, amikor 20 kV/cm térerősséget alkalmaztak. HEINZ és munkatársai (2002) átfogó tanulmányukban almalében (pH 3,4) különböző mikroorganizmusok inaktivációját mérték PEF kezelés során, amikor 34 kV/cm térerősségű, 40 kJ/kg energia inputot alkalmaztak 55 °C kezdeti hőmérséklettel és a következő eredményeket közölték: *E.coli* esetében 6,2 log, *R. rubra* 6,5

log, továbbá *A. niger* esetében 4,3 log, míg *L. rhamnosus* esetében 4,9 log nagyságú csökkenést tapasztaltak.

Narancslé esetében QIN és munkatársai (1998) az élesztők számában 4,2 log nagyságú csökkenést tapasztaltak 60 kV/cm térerősségű exponenciálisan csökkenő hullámalakú, 0,85 μ s impulzusszélességű kezelés esetén. RODRIGO és munkatársai (2000) *L. plantarum* esetében 2,5 log csökkenést értek el, amikor 28,6-35,9 kV/cm térerősséget, 10-50 μ s impulzusszélesség mellett alkalmaztak. *E. coli*, *L. innocua*, *L. mesenteroides* esetén 30 kV/cm térerősséget 2 μ s impulzusszélességgel és 54 °C hőmérséklettel kombinálva, 5-6 log csökkenést értek el (McDONALD et al. 2000).

Alicyclobacillus acidoterrestris mikroorganizmus PEF technológiával történő inaktiválására viszonylag kevés irodalom található, tekintettel arra, hogy ez egy spóráképző baktérium. UEMURA és munkatársai (2009) narancslébe beoltott *Alicyclobacillus acidoterrestris* spórákat inaktiváltak rövid idejű, váltakozó áramú nagyfeszültségű pulzáló elektromos térrel (HIPEF-AC) segítségével, 2,5-2,7 kV/cm térerősséget alkalmazva 20 kHz frekvencián, 13,8 ms kezelési idővel, mialatt a narancslé hőmérsékletét 35 °C-ról 110 °C-ra emelték. Ezt a tartósítási módot hagyományos hőkezeléssel hasonlították össze, amelyben 2 olajfürdő és egy csöves hőcserélőt alkalmaztak. Az elektróda és hűtőegység közötti tartási idő 0,3-0,9 másodperces volt.

2.4.3. PEF kezelés fiziko-kémiai és színre gyakorolt hatása gyümölcslevek esetén

A pH értéket vizsgálva RIVAS és munkatársai (2006) PEF- és hőkezelés hatásaként nem szignifikáns növekedést tapasztaltak, továbbá megállapították, hogy a tárolási idő nem befolyásolta a pH alakulását. YEOM és munkatársai (2000b) nem észleltek változást a PEF kezelt (35 kV/cm, 59 μ s) narancslé pH mérése során, majd a továbbiakban 4-, illetve 12 °C hőmérsékletű, 112 napos tárolás esetén sem változott ez az érték. SÁNCHEZ-MORENO és munkatársai (2005) sem tapasztaltak pH változást, a kezeletlen és a kezelt levek között, amikor gyümölcsleveket, köztük narancslevet kezeltek HHP – 400 MPa nyomáson, 40°C hőmérsékleten, 1 perces kezelési idővel – és PEF technológiával 35 kV/cm térerősségen, 750 μ s kezelési idő mellett.

Citruslevek esetében a Brix° egyike a legfontosabb tényezőknek, amit citruslevek minőségének osztályozására használnak (McALLISTER 1980). A mikroorganizmusok a gyümölcslé romlását okozhatják a cukrok fermentációja révén, így ezáltal változhat a Brix° értéke is. AYHAN és munkatársai (2001) kutatásukban PEF kezelt narancslevek (35 kV/cm,

59 μ s) vizsgálatánál megállapították, hogy a Brix° nem változott, 112 napig tartó, 2-, illetve 22 °C hőmérsékletű tárolás esetében sem.

CSERHALMI és munkatársai (2006) szintén nem tapasztaltak változást a pH, Brix° tekintetében, amikor PEF kezelést végeztek (28 kV/cm, 2 μ s) 55%-os grépfrútlé, 20%-os citromlé, 40%-os narancslé, 65%-os mandarinlé esetében.

YEOM és munkatársai (2000a) vizsgálatai szerint a gyümölcslevelekben kisebb mértékű színváltozás (kiterjesztett tárolási idővel) volt jellemző PEF kezelt levek esetében,- amikor is PEF kezelt narancslevet 112 napig 4 °C-on tároltak.

Ezek a minőségre vonatkozó tanulmányok tehát, ahol a PEF kezelés hatását vizsgálták a fiziko-kémiai, illetve néhány érzékszervi tulajdonság tekintetében, igen ígéretesnek tűnnek.

A szín jelentősen befolyásolja a fogyasztói elfogadást, így ennek vizsgálatát a legtöbb kíméletes technológiával foglalkozó, azokat összehasonlító tanulmányban is részletesen említik (CORTÉS et al. 2009, LEE et al. 2003, LEE et al. 1999, RIVAS et al. 2006, CSERHALMI et al. 2006). CORTÉS és munkatársai (2008) és LEE és munkatársai (2003) is emelkedést tapasztaltak az L* értékben (a minta színének világosságát mutatja meg), amikor hőkezelést és PEF kezelést vizsgáltak és hasonlítottak össze a kezeletlen mintákkal.

Ugyanakkor RIVAS és munkatársai (2006) nem találtak szignifikáns különbséget az L* értékben, miután 98 °C-on 21 másodpercig tartó hőkezelést, vagy 25 kV/cm térerősségű, 280 μ s kezelési idejű PEF kezelést végeztek narancs-sárgarépalé esetében.

Az a* értéke, amely a piros-zöld színátmenetet jellemzi, CORTÉS és munkatársai (2009) mérésorozatában szignifikánsan nagyobb volt ($4,56 \pm 0,40$) a kontroll narancslé esetében, mint a 30 kV/cm térerősségű, 100 μ s kezelési idejű PEF kezelés ($2,99 \pm 0,08$), illetve a 90 °C hőmérsékleten 20 másodpercig tartó hőkezelés esetében ($1,57 \pm 0,03$). A sárga-kék színátmenetet meghatározó b* érték magasabb volt a hőkezelt ($57,61 \pm 10,56$) levekben, a PEF kezelt ($53,62 \pm 0,57$) és kontroll ($50,73 \pm 0,67$) levekhez viszonyítva.

2.4.4. PEF kezelés szerves savakra és illékony aromakomponensekre gyakorolt hatása

A narancslé legfontosabb oldható alkotóelemei a szerves savak. Az összes oldott szilárd anyag tartalmának 10%-át adják (TING 1980). A szerves savak összetételének beazonosítása és mennyiségi meghatározása figyelemreméltó fontosságú, tekintettel arra, hogy a lé ízkarakterisztikáját és érzékszervi minőségét jellemzik és hasznos információkat nyújtanak annak valódiságáról, és a tárolás során fellépő esetleges mikrobiológiai változásokról (VERVOORT 2011).

A szerves savak közül a citrom – és almasavat fő szerves savként ismerjük, amelyek megtalálhatók a citrusfajtákban, narancsban és meghatározzák azok savasságát (KARADENİZ 2004).

A narancslé legfontosabb egészséges táplálkozáshoz való hozzájárulása magas C-vitamin tartalmához köthető. Tekintettel arra, hogy hőérzékeny és instabillnak mondható a tárolás során, az aszkorbinsav gyakran szolgál gyümölcsök és zöldséges minőségjellemzőinek indikátoraként, információt szolgáltatva a tápérték és érzékszervi tulajdonságok csökkenésével kapcsolatban. Az aszkorbinsav tartalom, mint egy minőségi indikátor szerepel a zöldségek és gyümölcsök esetében (ESTEVE et al. 1996, GIANNAKOUROU, TAOUKIS 2003), tekintettel arra, hogy hőmérséklet érzékeny bioaktív komponens, amely más organoleptikus, vagy tápérték jellemzésére szolgáló tényező is (BLASCO et al. 2004).

Számos tanulmány foglalkozik az aszkorbinsav PEF kezelés után bekövetkező változásával. Egy példát említve MIN és munkatársai (2003) a frissen facsart narancslé aszkorbinsav tartalmát 55 mg/100 ml mennyiségben állapították meg. 40 kV/cm térerősségű PEF kezelés hatására ez az érték nem változott jelentős mértékben, viszont amikor 90 °C hőmérsékleten 90 s kezelési idejű hőkezelést alkalmaztak az aszkorbinsav tartalom 19%-kal csökkent.

Az aromákat tekintve ebben a kutatásban megállapították, hogy a frissen facsart lé aromaértékét 100 %-nak tekintve, a PEF kezelés után a mircén visszatartása 88% volt, a hőkezelt 63%-os értékhez képest. Ez a tendencia megfigyelhető volt oktanal, d-limonén és dekanal esetében is.

A gyümölcslevek esetében a nem enzimikus barnulás velejárója a mellékíz és mellékilletok megjelenése, amelyet a minőségvesztés egyik fő okozójának tartanak a feldolgozás és tárolás során. A folyamatot felgyorsíthatja a kezelési hőmérséklet és – idő, illetve tárolás időtartama (LEE, NAGY 1988 a). CSERHALMI és munkatársai (2006), illetve CORTÉS és munkatársai (2008a) nem találtak a hidroximetil-furfurol (HMF) szintjében jelentős növekedést, PEF kezelést követően.

2.4.5. A PEF kezelés összfenol tartalom és gyökfogó képességére gyakorolt hatása

A fenol komponensek másodlagos metabolit termékek, amelyek köztudottan fontos szerepet játszanak a gyümölcslevek szín- és ízvilágának kialakításában. Az alma- és az abból készült termékek összetett illat- és ízvilága részben a fenolos komponenseknek köszönhető. A fenolokat a gyümölcstermékek fiziológiai állapotának és minőségében fellépő esetleges károsodások, nem kedvező változások indikátoraként is alkalmazzák (BLANCO et al. 2001). A fenolos komponensek így ebből adódóan például az almalében fontos biokémiai összetevőknek számítanak. Koncentrációjuk erős csökkenése így jelentősen károsíthatja az

almalé érzékszervi tulajdonságait. A PEF kezelés során fellépő minimális veszteség tehát egyértelmű előnyt jelenthet a HTST pasztörözési eljárással szemben (AGUILAR-ROSAS et al. 2007). A PEF kezeléseket tekintve a kritikus paraméterek optimális kiválasztása is döntő szerepet játszik a biológiailag aktív anyagok koncentrációjának alakulásában. ODRIZOLA-SERRANO és szerzőtársai (2009) a szamócalében a PEF kezelés hatására bekövetkező antocianin tartalom változását tanulmányozták és azt tapasztalták, hogy magasabb visszatartás érhető el nagy frekvencia és kisebb impulzusszélesség alkalmazásával.

A PEF kezelés során az összfenol tartalom változását is számos kutató vizsgálta a hőkezeléshez viszonyítva. AGUILAR-ROSAS és munkatársai (2007) megállapították, hogy a HTST hőkezelés során, amelyet 90 °C hőmérsékleten 30 sec kezelési idő alatt végeztek, a fenolok mennyisége 32,2 %-kal csökkent, míg 35 kV/cm térerősségű, 1200 impulzusszámú PEF kezelés során ez az érték mindössze 14,49 % veszteséget eredményezett. Korábban SPANOS és WROLSTAD (1992) már megállapították, hogy a 80 °C 15 percig hőkezelt almalé minimum 50 %-kal csökkentette az összfenol koncentrációt.

A PEF kezelések utáni összfenol vizsgálatokat nézve érdekes összefüggéseket figyeltek meg a kutatók. BALASA és munkatársai (2006) frissen facsart szőlőlé PEF kezelését végezték (0,5-2,4 kV/cm térerősség, 50-es impulzusszám) és az összfenol tartalomban 13-28%-os növekedést véltek felfedezni a kezeletlen mintához viszonyítva. Ebben az esetben az történhetett, hogy a növekvő elektromos térerőből adódó egyre növekvő kezelési intenzitás alkalmazásával a sejtmembrán permeabilizáció és ezt követően az intracelluláris komponensek kioldódása. Ez tulajdonképpen összefüggésbe hozható azon állítással, miszerint a PEF kezelés során a növényi rendszerekben vagy sejt kultúrákban stressz reakciók indukálódhatnak, így bizonyos komponensek bioprodukciója növelhető, illetve stimulálható (TOEPFL et al. 2005).

2.4.6. Kombinált hő és pulzáló elektromos térerő alkalmazása

A kíméletes technológiák egyik továbbfejlesztési iránya a különböző technológiák kombinációinak alkalmazása.

A mérsékelt hőmérsékleten (~50 és 60 °C) végzett PEF kezelések szinergikus hatást mutattak a mikroorganizmusok inaktivációjára vonatkozólag (JAYARAM et al. 1992, DUNN, PEARLMAN 1987, FDA 2000). Konstans térerőintenzitást, de emelkedő kezelési hőmérsékletet alkalmazva az inaktiváció mértéke is növekedik. A kezelési hőmérséklet hatását vizsgálva megfigyelték, hogy például az *Escherichia coli* túlélő mikrobaszámában 1 és 6,5 log közötti csökkenés következett be, amikor a hőmérsékletet 32 °C-ról 55 °C-ra emelték (VEGA-MERCADO et al. 1996a). A PEF kezelés során még akkor is jelentősebb

pusztító hatás hajtható végre, ha a folyamat hőmérsékletét 5-10 °C-ról 25 °C-ra emelik. MARQUEZ és munkatársai (1997) megállapításai szerint ez azzal is magyarázható, hogy a megemelt hőmérséklet hatására az oldat elektromos vezetőképességében is változás várható, amely megnő. A magas kezelési hőmérséklet további hatásaiként változások figyelhetők meg a sejtmembrán folyékonyságában/folyósságában és áteresztőképességében, amely méginkább hajlamossá teszi a sejtet a mechanikai szétszakadásra (HULSHEGER et al. 1981).

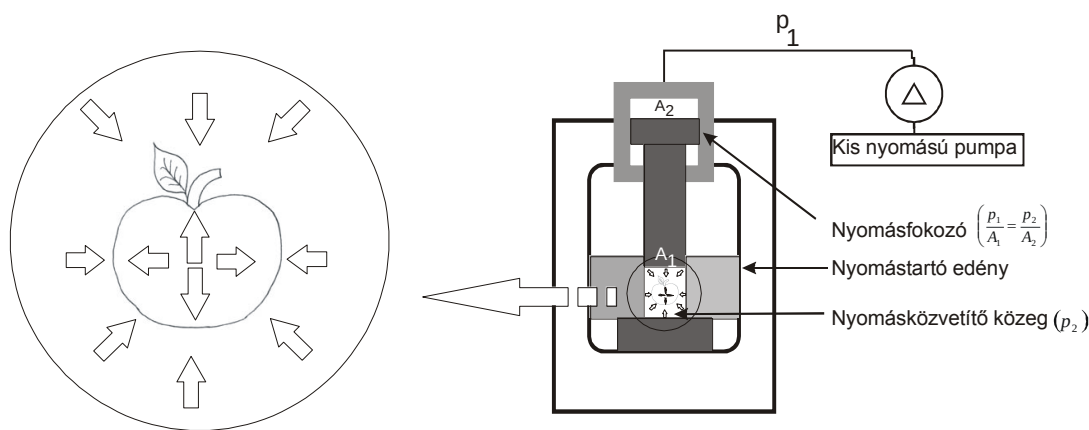
JEYAMKONDAN (1999) megállapította, hogy az alacsony transzmembrán potenciál csökkenti az elektromos vezetőképességet, így ebből adódóan növeli az inaktivációt.

EVRENDILEK és munkatársai (2000) kutatásában, amikor a PEF (35 kV/cm, 94 µs) és a hőkezelést (60 °C, 32 s) kombinálták, azt tapasztalták, hogy az így kezelt friss almatörköly több, mint 67 napig eltartható volt 4 °C hűtve tárolás mellett. Amikor EVRENDILEK és szerzőtársai (2001) vörös áfonya levét kezelték hő (60 °C, 32 s) – és PEF kezeléssel (32 kV/cm, 94 µs), akkor 4 °C hűtve tárolás mellett az eltarthatósági idő 197 napra nőtt.

2.5. Nagy hidrosztatikai nyomású technológia

A technológiát először Japánban alkalmazták ipari körülmények között, az 1990-as évek elején. A tartósítóiparban a nagy hidrosztatikai nyomás alkalmazási lehetősége magában foglalja a gyümölcs és zöldségtermékek pasztörözését (PARISH 1997; YEN, LIN, 1996), a hústermékek puhítását (ELGASIM, KENNICK, 1980; OHMORI et al. 1991, CHEFTEL 1995, CHEFTEL, CULOLI, 1997), tejipari alkalmazását (MESSENS et al. 1997), ezenkívül a nagynyomású fagyasztást és felengedtetést (KALICHEVSKY et al. 1995).

A tartósításra alkalmazott hidrosztatikai nyomás úttörője HITE (1899) volt. A HHP technológia az elmúlt évtizedekben vált egyre ismertebbé. A nagynyomású kezelés többnyire nem hőkezeléses eljárás, még akkor sem, ha a nyomás alkalmazásával és annak emelésével a termék hőmérséklete némileg megemelkedik. A nagy hidrosztatikai nyomású technológia alkalmazása során a szilárd, vagy folyékony élelmiszert egy adott nyomásnak tesszük ki, amelynek értéke 100 és 800 MPa között ingadozhat (MERMELSTEIN, 1998). A HHP kezelés előnye, hogy alkalmazásával jó szín és tápérték-megőrzést érhetünk el, esetlegesen kedvező állományváltozást, az élelmiszer csomagoltan kezelhető és alapvetően pozitív fogyasztói fogadtatás jellemzi (KONCZ et al. 2007). Hátránya, hogy a folytonos technológia nehezen megvalósítható, a spórainaktivációhoz kombinált kezelésekre van szükség, flexibilis csomagolóanyagot igényel, enzimek nem kellőképpen inaktíválódnak.



3.ábra A HHP kezelés működési elve (DALMADI, FARKAS 2006).

A kezelés előnyeként említhető, hogy a hidrosztatikus nyomás a Pascal-elv szerint pillanatszerűen és egész tömegében egyenletesen (izosztatikusan) érvényesül a közvetített folyadékba merített előzőleg légmentesen lezárt flexibilis csomagolásban lévő élelmiszerben (KONCZ et al. 2007). A nyomás hatása független a termék méretétől és geometriájától (KNORR, 1993). A flexibilis csomagolóanyag alkalmazása azonban elengedhetetlen, mivel a nyomás változtatása térfogatváltozással is együtt jár, amit a csomagolóanyagnak szintén követnie kell.

A nagy hidrosztatikus nyomású kezelések hatékonysága számos tényezőtől függ, mint például az alkalmazott nyomás, kezelési hőmérséklet, termék kiindulási hőmérséklete, kezelési idő, kompresszió és dekompresszió sebessége.

A kompresszió során hőmérsékletemelkedés, vagy adiabatikus melegedés lép fel, melynek mértékét a nyomás nagysága és az élelmiszer összetétele, pH értéke és vízaktivitása, továbbá a nyomás átvivő folyadék termofizikai tulajdonságai is befolyásolnak. A nyomás elengedési, azaz dekompressziós szakasza során hőmérséklet csökkenés, vagy adiabatikus hőmérséklet csökkenés következik be. A nagy hidrosztatikai nyomású kezelések során a hőátadás nem történik meg olyan gyorsan és egységesen, mint a nyomás esetében, így a kamrában a hőmérsékleteloszlás kritikus lehet.

A HHP technológia költségeit tekintve megállapították, hogy egy üzemi HHP berendezés beruházási költsége körülbelül 0,5-2 millió euro között mozoghat, a termelési költség 0,1-0,2 euro/kg kezelt élelmiszer, ami gyümölcslevek pasztörözése esetében körülbelül húszszoros költséget jelent egy egyenértékű hőcserélős rendszerhez viszonyítva (MANVEL 1996).

A megjelent, kereskedelmi forgalomban kapható termékekről elmondható, hogy Japánban elterjedt alkalmazási területe van, grépfrütlé kezelését végzik (Pokka Corporation, Japan) 120-400 MPa nyomáson, 2-20 perces kezelési idővel, 20 °C hőmérsékleten, esetlegesen

kiegészítve hőkezeléssel. Mandarinlé kezelését (Wakayama Food Ind. Japan) 300-400 MPa nyomáson, 2-3 perces kezelési idővel, 20 °C hőmérsékleten.

Az alkalmazási területeket tovább tekintve elmondható, hogy Európában alkalmazzák például a HHP kezelést narancslé tartósítására Franciaországban (UltiFruit, France), 500 MPa nyomáson, 5 – vagy 10 perces kezelési ciklusokkal, 1 perces tartással. További alkalmazásokként megemlíthető a sonkák HHP kezelése is tartósítás céljából (NC Hyperbaric, Spanyolország).

2.5.1. HHP kezelés fiziko-kémiai paraméterekre és színre gyakorolt hatása

A szobahőmérsékleten végzett HHP kezelés olyan nem hőkezeléses eljárás, amelynek során inaktiválhatjuk a sejteket, úgy, hogy minimális hatással van azokra az érzékszervi tulajdonságokra, amelyek a friss jelleget képviselik, úgy mint állomány, szín és ízkarakter.

Általánosságban véve nem változtatja szignifikáns mértékben a pH értéket a HHP kezelés, de van olyan tanulmány, amely kimutatta, hogy a kompresszió során a pH érték eltolódik az alkalmazott nyomás függvényében. Erre példát HEREMANS (1995) mutatott kutatásában, mégpedig almalé esetében megfigyelte, hogy a pH értéke 0,2 egységgel csökkent 100 MPa nyomásonkénti emeléssel. A pH eltolódás iránya és nagysága élelmiszerenként és feldolgozási folyamatokként eltérő lehet.

OEY és munkatársai (2008 a) tanulmányukban kifejtették, miszerint a HHP kezeléssel feldolgozott gyümölcsök és zöldségek színek komponensei változhatnak a tárolás során az enzimek és mikroorganizmusok nem teljes inaktivációjából adódóan, ugyanakkor PERERA és munkatársai (2009) gyümölcsök HHP kezelése során csak minimális színre kifejtett hatást véltek felfedezni. A színek komponensekben bekövetkező változást jelentősen befolyásolhatja az élelmiszer jellege, az alkalmazott nyomásszint, kezelési hőmérséklet, az azt követő tárolás és annak hőmérséklete is. VARELA-SANTOS (2012) és munkatársai is a nyomás szint tulajdonságokra kifejtett hatását mutatták be gránátalma lé kezelése során, miszerint 350-550 MPa emelkedő nyomással, világosabbá váltak a levek (L^* érték), és a lé vöröses színe csökkent (a^* érték), illetve emelte a b^* értéket, azaz sárgásabb színt figyeltek meg. Az L^* és a^* csökkenését az antocianinok degradációjának, vagy polimerizációjának tudták be.

2.5.2. HHP kezelés szerves savakra és illékony aromakomponensekre gyakorolt hatása

Irodalmi adatok bizonyítják, hogy a HHP kezelés kíméletesen bánik az élelmiszerek C-vitamin tartalmával. QUAGLIA és munkatársai (1996) kutatása szerint szobahőmérsékleten, 900 MPa nyomáson, 5-10 perc időtartamú HHP kezelés után a friss zöldborsó aszkorbinsav tartalmának 82 %-a megmaradt. Frissen facsart citruslevelek esetén OGAWA és munkatársai

(1992) megállapították, miszerint maximum 600 MPa nyomáson 23 °C hőmérsékleten 10 percig tartó kezelés nem befolyásolta a kezdeti aszkorbinsav koncentrációt. Hőkezeléssel összehasonlítva pedig a *valencia* narancslé esetében PARISH (1997) azt állapította meg, hogy a nyomáskezelés (500-700 MPa/50-60 °C /60-90 s) gyümölcsleiben az aszkorbinsav százalékos aránya 20-45 %-kal volt magasabb, mint a hőkezelt (98 °C, 10 s) minták esetében 20 hetes, 4, illetve 8 °C hőmérsékletű tárolást figyelembe véve. Az aszkorbinsav tartalom változását vizsgálták áfonyalé esetében, ahol például a kezeletlen és kezelt levek 14,6 mg/100 g és 15,9 mg/100 g érték között változtak (BARBA et al. 2011). Hasonló eredményeket publikáltak már korábban is PRIOR és munkatársai (1998). A 200 MPa nyomáson 5-15 percig tartó kezelés során a kezelt minták aszkorbinsav tartalma nem csökkent, míg a 400, illetve 600 MPa nyomáson kezelt minták aszkorbinsav tartalma szignifikánsan alacsonyabb volt, habár kutatásuk szerint még így is a kiindulási C-vitamin tartalom 92 %-a megmaradt a kezelést követően.

SAMPEDRO és munkatársai (2009) vizsgálták narancslé és abból készült termékek HHP kezelés után fellépő aromaváltozásait. Általánosságban véve az aromaváltozások 14,2 és 7,5% közötti értékűek voltak. Csak a β -mircén koncentrációja csökkent minden nyomásváltoztatás esetén, azonban a 650 MPa nyomású kezelés során a limonén koncentrációjában nem volt csökkenés. A kombinált hő- és HHP kezeléseket tovább vizsgálva pedig megállapították, hogy 50 °C hőmérsékleten 650 MPa nyomást alkalmazva az illékony komponensek vesztesége pont annyi volt, mint a hőkezelés (85-90 °C) során elért maximum veszteség.

2.5.3. A HHP kezelés összfenol tartalmára és gyökfogó képességére gyakorolt hatása

BARBA és munkatársai (2011) kutatásukban, áfonyalé vizsgálatánál megállapították, hogy a fenolok viszonylag ellenállóak a HHP kezelésekkal szemben, annak ellenére, hogy például 200 MPa 5-15 perces HHP kezelés után azok szignifikánsan (13-27%) nőttek és 24 %-os emelkedés volt jellemző 400 MPa 15 perces kezelés esetében. Az összfenol tartalomban bekövetkező ily mértékű növekedés kapcsolatban állhat néhány antioxidáns komponens megnövekedett kivonhatóságával, amely a nagy hidrosztatikai nyomású kezelést követően alakulhat ki. (CORRALES et al. 2008). Ugyanezen kutatás keretén belül mutatták ki, hogy a szőlő melléktermékében nagynyomás kezelést követően emelkedést tapasztaltak az összfenol tartalomban.

FERNÁNDEZ GARCÍA és munkatársai (2000) megfigyelték, hogy almalé 600 MPa nyomáson, 60 °C hőmérsékleten, 30 percig tartó nagynyomású kezelése csak kis mértékben

befolyásolta az antioxidáns kapacitást (TEAC értékben kifejezve: Trolox Equivalent Antioxidant Capacity). Megállapították továbbá, hogy 21 napos, 4 °C-on történő tárolás nem okozott szignifikáns változást az antioxidáns kapacitásban, C-vitamin tartalomban, illetve narancslé, továbbá a narancslé-sárgarépalé-citromlé karotin tartalmában. Almalé és paradicsompüré esetében az antioxidáns kapacitásban jó megőrzését érték el HHP kezelt termékeknél 1 hónapos tárolási idő során. DEDE és munkatársai (2007) viszont szignifikáns csökkenést tapasztaltak az antioxidáns kapacitásban paradicsom-és répalé esetében miután 250 MPa nyomást alkalmaztak 35 °C hőmérsékleten, 15 percig. OEY és munkatársai (2004) szintén csökkenést tapasztaltak a TEAC értékben narancslé antioxidáns kapacitásának HHP kezelés hatására. Mindamellett PATRAS és munkatársai (2009a,b) kutatásuk eredményeként azt közölték, hogy a HHP kezelés vagy növeli, vagy nem is befolyásolja a folyékony élelmiszerek antioxidáns aktivitását.

2.5.4. Kombinált hő-és nagy hidrosztatikai nyomású technológia alkalmazása

Az élelmiszerbiztonságra minél nagyobb hangsúlyt fektetve, számos tanulmány kiterjedten foglalkozott a kombinált hő – és nagy hidrosztatikai nyomású technika mikroorganizmusokra kifejtett hatásával (SONOIKE et al. 1992; HASHIZUME et al. 1995; KNORR 1995, HEINZ, KNORR 1996, REYNS et al. 2000). KNORR és munkatársai (1995) kutatásukban megállapították, hogy a vegetatív sejtek száma jelentősen lecsökkenthető abban az esetben, ha 400 MPa fölötti nyomásértékkel végezzük a kezelést, mértéktartó hőmérséklettel kombinálva, egészen 40 °C hőmérsékletig, 10 és 30 perc időtartamig. Másrésről a vegetatív sejtek túlélő frakcióját megismételt nyomásciklusoknak kitéve növekszik azok nyomásrezisztenciája, például az *Escherichia coli* esetében is, amely a nagy nyomással történő inaktivációval szemben ellenállóvá vált (ALPAS et al. 1999, BENITO et al. 1999). A mikrobiális spórák inaktíválhatók nagy nyomásnak történő kitettség során, de a szobahőmérsékleten alkalmazott nyomásszint nem elégséges az életképes spóraszám jelentős csökkentéséhez (INDRAWATI et al. 2002). A legtöbb tanulmány azt mutatja be, hogy a nagy nyomás elősegíti a spóra csírázását és a spórainaktiváció mértéke növelhető az alkalmazott nyomás és hőmérséklet emelésével (KNORR 1995, WUYTACK 2002). Ezt alapul véve MEYER és munkatársai (2000), illetve KREBBERS és munkatársai (2001) azt fogalmazták meg, hogy ahhoz, hogy elérjük a mikrobiológiai sterilitást az íz-, állomány-, és szín tulajdonságok degradálása nélkül, többszöri megismételt kezelést kell alkalmazni, nem túllépve a 105 °C vég hőmérsékletet. Tehát elmondható, hogy a HHP kezelés általában a vegetatív sejtek inaktivációjában lehet hatékony 300-700 MPa nyomás alkalmazása mellett (PATTERSON et al. 1995), azonban a

spórák relatív ellenállóak a kezelésre (NAKAYAMA et al. 1996; SMELT 1998), így spórák inaktivációjához kombinált kezelés szükséges.

2.5.5. HHP kezelés mikrobákra kifejtett hatása, különös tekintettel az *Alicyclobacillus acidoterrestris* esetén

A HHP technika *Alicyclobacillus Acidoterrestris* mikroorganizmus inaktivációjára kifejtett hatékonyságát, illetve a spórák hőinaktivációját és a kombinált kezelési lehetőségeket LEE és munkatársai (2002,2006) is vizsgálták és tanulmányukban (2002) demonstrálták, hogy a kereskedelmi forgalomban kapható almalevekbe beoltott *Alicyclobacillus acidoterrestris* spórák sikeresen inaktiválódtak, amikor a nyomást hőkezeléssel kombinálták. A vizsgálat során megállapították, hogy például 45 °C hőmérsékleten, 207 MPa nyomást alkalmazva 10 perc kezelési idővel 3,5 log nagyságú csökkenés volt elérhető, míg 71 °C hőmérsékleten, 1 percre tartó, 621 MPa nyomású kezeléssel ez az érték 5,5 log nagyságú volt. ALPAS és munkatársai (2003) almalé, narancslé és paradicsomlébe beoltott *Alicyclobacillus acidoterrestris* inaktivációját vizsgálták, amikor 350 MPa nyomáson 20 percre tartó, 50 °C hőmérsékleten zajló kezelést végeztek, melynek eredményeként mindegyik lé esetében több mint 4 log csökkenést értek el.

2.6. Kémiai érzékelősorok élelmiszeripari alkalmazása

Napjainkban egyre növekvő igény mutatkozik a különböző technológiai folyamatokból adódó különbségek kimutatására, mind aromaváltozás, mind mikrobiológiai szempontból.

A legtöbb élelmiszeraroma komplexitása nehezíti azokat hagyományos analízis technikákkal, mint például gázkromatográfiával történő mérésüket. Azon felül az érzékszervi bírálatokban résztvevő képzett bírálók csak rövid idejű munkavégzésre képesek, továbbá az illatokkal kapcsolatos visszajelzéseik szubjektivitása is problémát hordozhat (PERIS et al. 2009). Ez is bizonyítja, hogy szükség van olyan műszerekre, mint például az elektronikus orr- és nyelv, amelyek nagy érzékenységek és jól alkalmazhatók az élelmiszer minőségi vizsgálatokban. Képesek objektív, roncsolásmentes élelmiszervizsgálatokra, mindemellett költségghatékonyaknak is nevezhetők. Mindez hozzájárul, hogy egyre elterjedtebb mérőműszerekké válnak az aromakomponensek és ízjellegzők vizsgálatánál.

Az elektronikus orrt GARDNER és BARTLETT (1994) olyan összetett rendszerként definiálta, amely elektronikus kemoszenzorok sorozatából és egy alakfelismerésre képes adatfeldolgozó rendszerből áll. Az elektronikus orr tehát szenzor sorokat alkalmaz, ahol minden szenzor nem-specifikus (CRAVEN et al. 1996).

A mintavételi egység egy zárható edény, amelybe a vizsgálandó anyagot helyezzük, majd lezárjuk. Majd a minta fölötti gáztérben lévő illékony komponensek eljutnak egy azonosító egységhez.

Az elektronikus orr szenzorjai csak azokat a kémiai vegyületcsoportokat detektálják, amelyek a szilárd, vagy folyékony minták gáztérében vannak jelen. A jelenlegi, vagy eddig ismert elektronikus orr műszerek összehasonlító berendezésekként működnek és a minta gáztérében található illékony komponensek ujjenyomatait adják, illetve osztályozzák a mintákat.

Az elektronikus orr képes megkülönböztetni számtalan illékony aromakomponenst és habár a szenzorok szelektivitása alacsony lehet, a számos osztályozási csoportok kombinációja igen nagy információ tartalommal bír. Így tulajdonképpen az elektronikus orr hatékonysága különböző szenzorok kombinációján és mennyiségén alapul.

Az elektronikus orr alkalmazási területei igen sokrétűek lehetnek, felhasználásuk lehetséges az élelmiszer- és üdítőiparban, illatszer gyártásánál, háztartási termékek esetén, a környezetvédelmi vizsgálatoknál, dohányiparban, ezenkívül gyógyszeriparban is (HODGINS 1995). További alkalmazási területei lehetnek a minőségellenőrzés, folyamatirányítás, eltarthatósági idő vizsgálatok (REID et al. 2006), illetve a számos szerző által tanulmányozott élelmiszeripari alkalmazások (DALMADI et al. 2007 a; KÁNTOR et al. 2008; KOVÁCS et al. 2009; CIOSEK et al. 2007). Számos ipari területet figyelembe véve, így például az élelmiszer- és üdítőipari szegmenseket, megállapítható, hogy még mindig a humán érzékszervi rendszerek számítanak a legfontosabb analitikai műszereknek az illat minőségének /jellegének megállapítására.

Az elektronikus orrhoz hasonló koncepcióra épül az elektronikus nyelv, mely jellemzően folyadékok analízisére alkalmas. Elektronikus nyelvnek nevezzük azokat a kémiai szenzor sorokat, amelyek alkalmasak oldott vegyületek mérésére nem-szelektív módon. Az elektronikus nyelv működéséhez mesterséges íz szenzorok szükségesek, amelyek olyan technikákon alapulhatnak, mint például: potenciometria, konduktometria, spektrofotometria és voltammetria. Napjainkban az összetett folyadékminták analízisére az elektronikus nyelv két fő típusát ismerjük, azokat, amelyek potenciometrián alapuló szenzorokkal, illetve, amelyek voltammetriás szenzorokkal rendelkeznek (DURÁN et al. 2006). A mérés elve, hogy a referencia elektród (3M KCl) és az IFSET alapú elektródok közötti potenciál különbséget mérjük. A polimer membrán különböző borításának köszönhetően a szenzorok érzékenységet mutathatnak szerves savak, sók, mono- és disszacharidokra.

A méréseimben is használt α -Astree elektronikus nyelv 7 IFSET alapú potenciometrián alapuló kémiai szenzort tartalmaz, amelyek élelmiszerben lévő anyagok mérésére

alkalmasak (ZZ3401, BA3401, BB3401, CA3401, GA3401, HA3401, JB3401) és kereszt-szenzitivitással rendelkeznek olyan ízanyagokra vonatkozóan, amelyek megtalálhatók élelmiszerekben és üdítőitalokban.

Tipikusan, az elektronikus nyelv olyan mennyiségi és minőségi ízjellemzőket mér, mint sós, édes, keserű, savanyú és umami íz. Általában véve ezek az íz jellegek/tulajdonságok mindegyik alkalmazási területre sztenderdizáltak, szemben az elektronikus orral, azonban a legtöbb alkalmazásra a két műszer egymás kiegészítőiként is funkcionálhatnak.

Az elmúlt évtizedekben számos tanulmány mutatta be az elektronikus nyelv alkalmazását a különböző típusú élelmiszerek megkülönböztetésére (sör, kávé, méz, tej, ásványvizek és borok) globális/átfogó tulajdonságaik nagy érzékenységgel és kereszt-szelektív kémiai érzékelőkkel történő mérése által (LEGIN et al. 1997; LEGIN et al. 2000; CIOSEK et al. 2007).

2.6.1. Az *Alicyclobacillus acidoterrestris* vizsgálata elektronikus orr segítségével

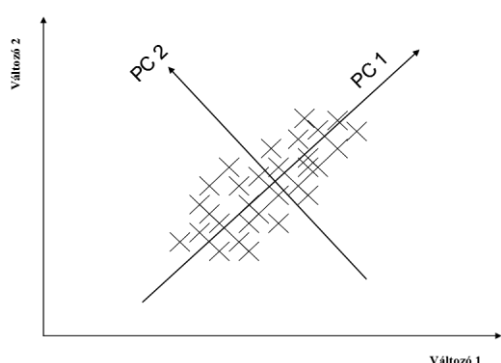
Számos tanulmány vizsgálta az *Alicyclobacillus acidoterrestris* mérésére alkalmazott elektronikus orr használatát és fontosságát (GOBBI et al. 2010; CONCINA et al. 2010). GOBBI és szerzőtársai (2010) munkája különböző gyümölcslevek esetén a baktérium korai és gyors detektálására irányult, illetve CONCINA és munkatársai (2010) az elektronikus orrt, mint egy diagnosztikai eszközt vizsgálták az *Alicyclobacillus spp.* fajtákra kiterjesztve három üdítőlé esetében és a beoltott minták beazonosítása közel 100 %-os helyes osztálybasorolási aránnyal sikeres volt.

GOBBI és mtsi (2010), illetve PAOLESSE és mtsi (2006) tanulmánya szerint az elektronikus orr képességében lévő kulcsszerep hogy a fertőzött, beoltott terméket azonosítsa, amely különbözik az eredeti minta illékony anyag profiljának változatától, amelyet a mikrobiológiai jelenlét indukál, tekintettel arra, hogy ez az eltérés szennyezettségi mutatóként értékelhető. Ez az eltérés az új komponensek megjelenésének köszönhető, vagy az eredeti illékony komponensek relatív mennyiségének variációjaként a minőségi összetételben történő változások nélkül.

2.6.2. Alkalmazott többváltozós statisztikai módszerek

Főkomponens analízis (PCA)

DALMADI és munkatársai (2007 b) megfogalmazásában a főkomponens-analízis (*Principal Component Analysis, PCA*) egy nem felügyelt (unsupervised), lineáris módszer, amelynek segítségével felmérhető, hogy a megfigyelési egységek között természetes módon alakulnak-e ki csoportok. Elvégzi a kiindulási adatmátrix dimenziójának csökkentését úgy, hogy a teljes adatmátrixot viszonylag jól reprezentáló, kisszámú háttérváltozó segítségével írja le. Ehhez a változók által kijelölt sokdimenziós térben olyan irányokat keres, amelyek irányában a mérési eredmények varianciája a legnagyobb.

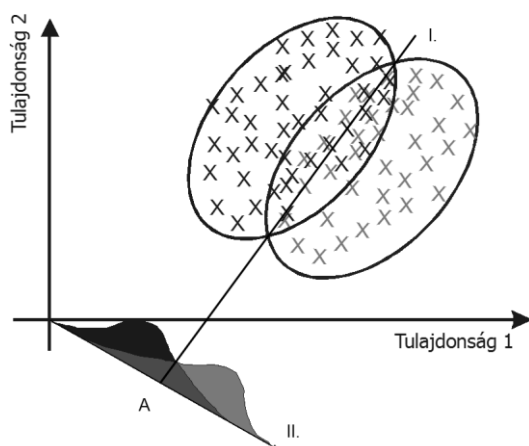


4.ábra Főkomponens analízis értelmezése
(DALMADI et al. 2007 b)

Az első főkomponens (PC) magyarázza meg a variancia legnagyobb részét. A második főkomponens ortogonális az elsőre, vagyis független attól. Grafikusan ez annyit tesz, hogy a főkomponensek merőlegesek egymásra. A második főkomponens a megmaradt varianciából annyit magyaráz, amennyi csak lehetséges. Ez így folytatódik mindaddig, amíg az összes variancia el nem fogy.

Diszkriminancia analízis

A diszkriminancia elemzés egy olyan többváltozós módszer, amelynek segítségével esetek kategorizálását végezhetjük el a függő változó kategóriái szerint. Az elemzés elvégzése után beazonosíthatjuk azokat a tényezőket, amelyek szignifikánsan megkülönböztetik a két vagy több vizsgált csoportot (függő változó). A *kanonikus diszkriminancia analízis* (CDA) egyike a leggyakrabban alkalmazott parametrikus osztályozási procedúráknak. A módszer célja, hogy megkeresse a csoportok, azaz a vizsgált minták közötti legnagyobb különbséget mutató irányokat. Ezeket diszkrimináns függvényeknek nevezzük. Az első függvény azt az irányt adja, ahol a legjobban elkülönülnek a csoportok. A további függvények mind merőlegesek egymásra. Minden diszkriminancia függvénynek van sajátértéke, amely az adott diszkriminancia függvény (dimenzió) relatív fontosságát mutatja a függő változó eseteinek osztályozásánál.



5.ábra CDA módszer értelmezése
(DALMADI et al. 2007 b)

A módszer lényegében a következőképpen működik (5. ábra): a két halmazt körülvevő szórás-ellipszis metszéspontjain át egyenest (I.) fektet, majd erre az origón átmenő merőleges egyenest illeszt. Ha a pontokat a II. egyenesre vetítjük, akkor a két csoport egyváltozós eloszlása közötti átfedés kisebb lesz, mint bármilyen más egyenes esetén. Az I. egyenes segítségével osztható a minta két csoportba.

Ha a szórás-ellipszisek átfednek, az alkotott modell nem adja vissza az összes minta eredeti csoportba tartozását. A szétválasztás jósága vizsgálható annak alapján, hogy az elemek hányad részét sikerült helyesen besorolni. (DALMADI et al. 2007 b)

A módszer lényege, hogy a kategóriák közötti varianciát (eltérést) maximalizálja, míg a kategóriákon belüli különbségeket minimalizálja. Az analízis során kapott táblázatokban megfigyelhetjük, hogy az egyes csoportokat milyen eredményességgel sikerült a többi csoporttól megkülönböztetni.

2.7. Szakirodalmi eredmények értékelése, célkitűzések

Nemzetközi és magyar szakirodalmi adatokra támaszkodva bemutattam a gyümölcsle fogyasztási tendenciákat, valamint az általánosságban alkalmazott tartósítási eljárásokat, párhuzamba állítva az új, kíméletes technológiákkal. Az egészséges életmód jegyében fontos, hogy olyan technológiákat alkalmazzunk, amelyek alkalmazását követően is megmarad az élelmiszerek tápértéke, kedvező érzékszervi tulajdonságai.

Doktori munkámban a kíméletes gyümölcsle tartósítási eljárások közül a pulzáló elektromos térerővel (PEF) és a nagy hidrosztatikai nyomású technikával (HHP) foglalkozom. Kutatásaimat részben a Központi Élelmiszer-tudományi Kutatóintézet (KÉKI) Technológiai Osztályán, részben a Berliini Műszaki Egyetem Élelmiszerbiotechnológiai és -folyamattervező Tanszékén végeztem. A KÉKI-ben végzett munka jellemzően a fent említett citruslevek (narancs, grépfrút, mandarin) PEF kezelése és HHP kezelése utáni

fiziko-kémiai tulajdonságok és szerves sav és illékony aromakomponensek vizsgálatára, illetve elektronikus nyelv és –orr mérésekre terjed ki.

A Berliini Műszaki Egyetemen végzett kutatásomban a technológiák hatékonyságát vizsgálva kiválasztottam egy mikroorgnaizmust, az *Alicyclobacillus acidoterrestris* DSMZ 2498, amelyet beoltottam 100%-os gyümölcstartalmú alma – és narancslébe. Kombinált hő (20, 50, 60 °C) és nagy hidrosztatikai nyomású kezelést alkalmaztam (200, 400, 600 MPa, 10 perc kezelési idővel), illetve kombinált hő (20, 50, 60, 80 °C) és pulzáló elektromos térerővel történő kezeléseket is végeztem három kezelési szinten a befektetett energiát figyelembe véve majd tároltam az így kezelt mintákat 4 hét időtartamig 4 °C-on. A 4 hetes tárolás során a mikrobiológiai analízis mellett mértem a fiziko-kémiai változásokat is, illetve színparamétereket, továbbá az illékony aromakomponensek esetleges változásainak mérésére elektronikus orrt alkalmaztam. Tekintettel arra, hogy a szakirodalomban nem találtam olyan adatot, ahol PEF – és HHP kezelést elektromos orr és – nyelv segítségével hasonlítani össze, ez indokolta a további kutatásaimat.

A fentiek alapján a célkitűzéseim a következők voltak:

1. Választ kerestem arra, hogy a három beoltatlan frissen facsart citruslé (narancs, grépfrút, mandarin) esetében a pulzáló elektromos térerő és nagy hidrosztatikai nyomású technológia alkalmazása milyen hatást gyakorol a fiziko-kémiai tulajdonságokra, beleértve színtulajdonságokat is, szerves savakra, és illékony aromakomponensekre.
2. A beoltatlan levek illékony komponenseinek vizsgálataihoz elektronikus orrt és – nyelvet alkalmaztam. Céljaim között volt annak megállapítása, hogy vajon ezek az elektronikus berendezések alkalmassá válhatnak-e a kezelési típusok megkülönböztetésére, összehasonlítására, illetve szolgálhatnak-e esetleges detekciós rendszerként?
3. Annak a meghatározása, hogy az *Alicyclobacillus acidoterrestris* DSMZ 2498 mikroorganizmussal beoltott alma – és narancslé PEF és HHP kezelése hogyan kombinálható a hőkezeléssel és a két technológia hatását mennyire befolyásolja az alkalmazott hőmérséklet, illetve a 4 hetes tárolási idő? Milyen változásokat okozhat a fent említett paraméterek meghatározása mellett az összfenol és gyökfogó tulajdonságban?
4. Az elektronikus orr képes-e megkülönböztetni a különböző nyomás- és hőmérséklet szinteken, illetve PEF kezelés esetében a különböző térerősséggel-és hőmérsékleten kezelt, majd különböző időtartamig tárolt gyümölcsleveket? További kérdésként

merült fel, hogy ha az elektronikus orr PEF és HHP kezelések között különbséget tesz, akkor egy adott kezeléstípuson belül a különböző paraméterekkel kezelt levek között is képes-e különbséget tenni?

3 ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Gyümölcs alapanyagok

A friss citrus gyümölcsök (narancs, grépfrút és mandarin) beszerzése a piacról történt. A kísérleteket nagy mennyiségű gyümölcsből készült mintából állítottam elő, annak érdekében, hogy mindegyik esetben a kiindulási anyagom ugyanaz legyen. A citrusleveket kifacsartam és felhígítás nélkül, leszűrtem a mérésekhez. Azokban a kísérletsorozatokban, amikor *Alicyclobacillus acidoterrestris* DSMZ 2498 mikroorganizmussal oltottam a leveket, kereskedelmi forgalomban kapható 100% gyümölcstartalmú alma és narancslevet használtam. Ennek indoklása egyrészt az, hogy nagy mennyiségű, mikrobiológiailag stabil, homogén mintára volt szükségem, másrészt ebben az esetben elektronikus orr segítségével, kifejezetten az *Alicyclobacillus* által termelt anyagcseretermék változásának mérését tűztem ki egyik célomul.

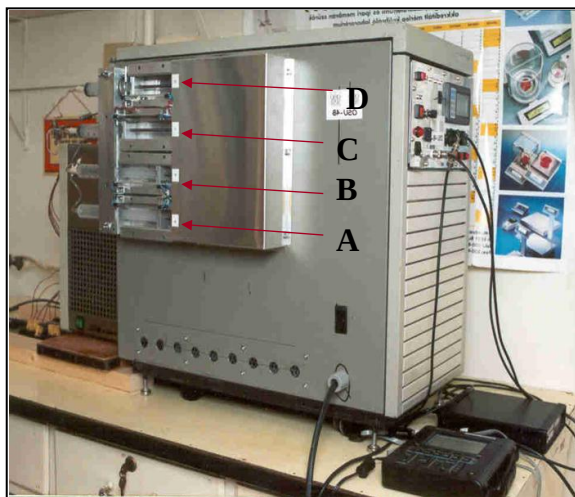
3.1.1. Mintaelőkészítés

A PEF és HHP kezelésre történő előkészítés a következőképpen zajlott: Az OSU-4B típusú laboratóriumi PEF berendezéssel történő méréshez a gyümölcsöket tisztításuk után Moulinex (Varipluse, Odacio 3) facsarógéppel feldolgoztam. Az így kapott 100% koncentrációjú pulpokat lecentrifugáltam 3000/perces fordulaton 30 percig majd ezt követően MN 640d/15 típusú szűrőpapíron történt az átszűrés, hogy a lében előforduló nagyobb darab gyümölcshúsokat elkerüljem, amelyek a kezelések során gondot okozhatnak a dielektromos tulajdonságok különbözősége miatt. Mindezekre azért is szükség volt, mivel az OSU-4B típusú berendezés elektródák közötti távolsága 0,29 cm nagyságú, így a kezelőtérben eltömődéseket okozhat, amely a kezelés sikertelenségéhez is vezethet.

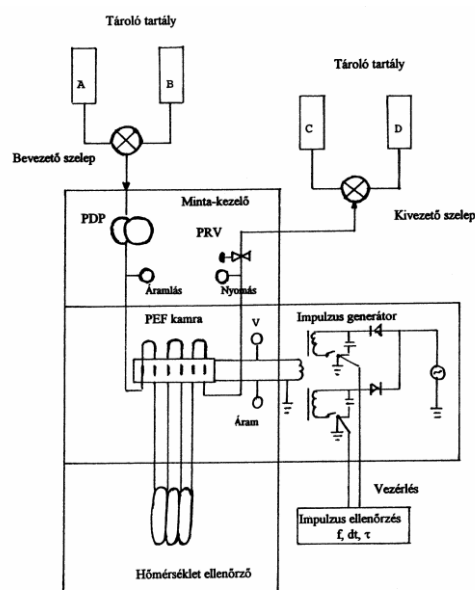
A Stansted FoodLab 900 típusú HHP berendezéssel végzett nagynyomású kezelés esetében 30 ml-es csavaros kupakú műanyag flakonokba töltöttem a kezelendő mintákat, amelyek töltésénél arra kiemelt figyelmet kell fordítani, hogy lehetőleg légmentesen zárjam le azokat. A folyamatos üzemű PEF- és az U 4000 típusú HHP berendezéssel végzett méréseknél kereskedelmi forgalomban kapható 100 % gyümölcstartalmú levekkel (alma, narancs) dolgoztam. A levek beoltása *Alicyclobacillus* szuszpenzióval történt 10 ml szuszpenzió/1000 ml gyümölcslé arányban. A beoltott levek végső mikrobaszáma 10^6 koncentrációjú volt.

3.2. Beoltatlan gyümölcslevek PEF kezelése OSU-4B típusú szakaszos üzemű PEF berendezéssel

A citruslevek PEF kezelése az 6. ábrán látható a OSU-4B típusú berendezéssel történt, amelyet az Ohio-i Egyetem tervezett és kivitelezett.

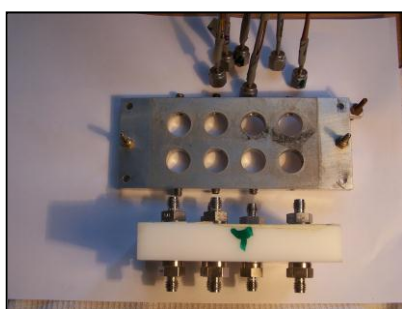


6. ábra. OSU-4B laboratóriumi PEF berendezés



7. ábra PEF rendszer szerkezeti ábrája (CSERHALMI, 2007)

Az 6. ábrán OSU-4B típusú berendezés látható. A berendezés kezelőterében (8. ábra) hat rozsdamentes acélból készült elektródpár (8. ábra) található soros összekapcsolásban. Az elektródok közötti távolság 0,29 cm nagyságú.



8. ábra A kezelőtér egy része. Az elektródpárok a szigetelőanyagba ültetve egymással szemben helyezkednek el.

A rendszer mintakezelő egységében 4 fecskendő található (6. ábra), amelyek közül az „A” jelű fecskendőbe kell tölteni a starter folyadékot, amelynek megegyező elektrofizikai tulajdonságokkal kell rendelkeznie a kezelendő mintával, amelyet pedig a „B” jelű fecskendőbe kell felszívni. A mérés során a ciklus elindulásakor az „A” jelű folyadékkal előmossuk a rendszer a kezelőtérét, majd a kezelendő minta indításával („B”) kezdődik a valódi kezelés. Az alkalmazott télerősségét a berendezésen kell beállítani. Az előre beprogramozott impulzusgenerátor szabályozza az impulzusszámot. A kezelés során a

feszültséget és a kirajzolódó hullámokat- ezzel a kezelés sikerességét is- a digitális oszcilloszkóp rögzíti (Tetronix Inc., Wilsonville, OR, USA, Model THS720A). A ciklus során a kezelt anyagot a berendezés a „C” jelű szippantyúba gyűjti, általában 20 ml mennyiséget, végül, a „D” jelű szippantyúba kerül a starter folyadék, illetve a nem PEF kezelt mennyiség. Az egyes elektród párokat elhagyó minta hűtött vízfürdőn halad keresztül, mielőtt belépne a következő elektród pára közé a kezelési hőmérséklet adott szinten tartása érdekében. A mérés során a hőmérséklet 25 ± 1 °C volt. Maga a berendezés maximálisan 34 kV/cm térerősség elérésére képes. Méréseim során 2 μ s szélességű bipoláris négyszöghullámokkal dolgoztam 28 kV/cm térerősség mellett, 50-es impulzusszám alkalmazásával, 100 μ s kezelési idő alatt. Az áramlási sebesség 84 ml/perc volt. A kezelést követően a mintákat steril üvegedényekbe helyeztem és 4 °C-on tároltam további analízisig.

A kezelésnél mindegyik gyümölcsle esetében háromszori ismétlés történt. A kezelt mintákat üvegedényekbe gyűjtöttem le további vizsgálatok céljából.

1.táblázat PEF kezelés során alkalmazott paraméterek

Berendezés	E (kV/cm)	np (impulzusszám)	t (μ s) kezelési idő	T (°C) hőmérséklet
OSU-4B PEF	28	50	100	20-28



9. ábra Food Lab 900 nagy hidrosztatikai nyomású készülék,
Budapesti Corvinus Egyetem,
Hűtő-és Állatiermék Technológiai Tanszék

3.3. Gyümölcslevek nagy hidrosztatikai nyomású kezelése

A nagy hidrosztatikai nyomású kezelés esetében 30 ml-es csavaros kupakú műanyag flakonokba töltöttem a kezelendő mintákat, amelyek töltésénél arra kiemelt figyelmet kell fordítani, hogy légmentesen zárjuk azokat le. A kezelést a 9. ábrán látható Stantsted Food Lab 900 típusú (Stansted Fluid Power type Food Lab 900, Stansted. Essex, U.K.) berendezéssel végeztem. A műanyag tárolóedényeket (4*30 ml) belehelyeztem a nagynyomású kamrába (37 mm belső átmérő $\times$ 300 mm belső magasság), amelyben etanol és rozsdásodás gátló (ricinusolaj, 15 v/v %) keveréke volt, majd 600 MPa nyomáson végeztem a kezelést 5

perc időtartamig. Hűtőrendszer segítségével szabályoztam a kezelés alatti hőmérsékletet (Haake C40-F6), hogy 20 °C foknál magasabb értéket ne érjen el. A kiválasztott nyomás eléréséhez szükséges idő 90-100 másodperc volt és a nyomás elengedési szakasz ideje 30-40 másodperc. A nagynyomáskezelés esetén is háromszori mérésismétlést alkalmaztam. A kezelést követően a már nagynyomáskezelt gyümölcsleveket tartalmazó flakonokat jeges vízbe helyeztem, majd további analízisig 4°C-on tároltam.

3.4. *Alicyclobacillus acidoterrestris* mikroorganizmussal beoltott alma-és narancslé mérésre történő előkészítése

A levek beoltása *Alicyclobacillus* szuszpenzióval történt 10 ml szuszpenzió/1000 ml gyümölcslé arányban az alábbi lépések szerint:

1. lépés: 1 darab *Alicyclobacillus acidoterrestris* DSMZ 2498 pellet feloldása 10 ml „A” oldatba, amely előre elkészített, erre a mikroorgnaizmusra specializált táptalaj. Majd behelyeztem a rázógépbe 24 órára, beállítva 121/perc fordulatot és 46 °C hőmérsékletre.
2. lépés: 90 µl mennyiséget kipipettáztam 9 ml steril Ringer oldatba. Majd ebből az elegyből 50 µl mennyiséget 50 ml „A” oldatba pipettáztam.
3. lépés: Az így kapott oldatot további 24 órára rázógépbe helyeztem 121/perc fordulatot és 46 °C hőmérsékletet beállítva.
4. lépés: A 3. lépés során elkészített oldatból 10 ml/ 1000 ml gyümölcslé arányban beoltást végeztem. A beoltott levek végső mikrobaszáma 10^6 koncentrációjú volt.

3.4.1. Baktérium törzs és a növekedéshez szükséges médium

A munkában használt *Alicyclobacillus acidoterrestris* DSMZ 2498 a Német Mikroorganizmus Gyűjteményből származott (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen; Braunschweig, Germany). A médium három különböző oldatból állt. Az „A”, „B” és „C” oldatot külön-külön steriliztem autoklávban (121 °C, 10 perc), majd összekevertem a következő arányban szilárd médium esetén: 500 ml „A” oldat, 1 ml „B” oldat, 500 ml „C” oldat.

Az „A” oldat a következőkből állt:	CaCl ₂ ·2 H ₂ O	0,25g
	MgSO ₄ · 7 H ₂ O	0,5 g
	(NH ₄) ₂ SO ₄	0,2 g
	Élesztő extraktum	2,0 g
	Glükóz	5,0 g

KH ₂ PO ₄	3,0 g
Desztillát víz	500 ml

Az "A" oldatot pH 4 (WTW Series Inolab, Terminal 740) értékre történő beállítása H₂SO₄ hozzáadásával.

Az "B" oldat a következőkből állt:	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,1 g
	MnCl ₂ ·4H ₂ O	0,03 g
	H ₃ BO ₃	0,3 g
	CoCl ₂ ·6 H ₂ O	0,2 g
	CuCl ₂ ·2H ₂ O	0,01 g
	NiCl ₂ ·6 H ₂ O	0,02 g
	Na ₂ MoO ₄ ·2 H ₂ O	0,03 g
	Desztillát víz	1000 ml

Az "C" oldat a következőkből állt:	Agar	15 g
	Desztillát víz	500 ml

3.4.2. A gyümölcslébe beoltott *Alicyclobacillus acidoterrestris* adaptációs ideje

A PEF – és HHP mérések megkezdése előtt elsőként az *Alicyclobacillus acidoterrestris* adaptációs idejét határoztam meg. A mikroba szaporodási fázisában a stacioner állapotot kerestem a beoltáshoz, mivel általánosságban véve elmondható, hogy a mikroorganizmusok szaporodási görbéjét alapul véve, a logaritmus fázisban lévő sejtek sokkal érzékenyebben reagálnak a stresszhatásra, mint a lag, és a stacionárius, azaz állandósult fázisban. A logaritmus fázisban a növekedési szakaszt a sejtek nagyarányú eloszlása jellemzi, amely alatt a sejtmembrán sokkal érzékenyebbé válik az alkalmazott elektromos térre, illetve más kezelésekre is. Fontos, hogy a vizsgálni kívánt mikroorganizmusunk a beoltás után az adott környezetéhez adaptálódjon, majd mikor az állandósult fázisát elérte, akkor történjen meg a kezelés. Így beoltottam az alma- és narancslébe *Alicyclobacillus acidoterrestris* mikroorganizmussal és különböző időpontokban a mikrobaszámot vizsgáltam. Ez a beoltás utáni 30 percen, 1. órában, 4. órában és 24. órában történt. Ennek a stacioner fázisnak a kimérését az adaptációs idővel jellemeztem, amelynek értéke az *Alicyclobacillus acidoterrestris* esetében 1 órát jelentett beoltás után, a kezelések megkezdése előtt.

Amennyiben nem várnám ki ezt az adaptációs időt kezelés előtt, akkor az így elért inaktiváció valójában nem a pulzáló elektromos térre, illetve nagy hidrosztatikai nyomású technika hatékonyságát mutatja, mivel egy úgynevezett, már „stressz-állapotban” lévő

mikroorganizmust kezeltem, amely megmutatkozhat például a hirtelen lecsökkenő összcsíra számban is. Tulajdonképpen legyengítem így a mikroorganizmust. Majd az azonnali kezelés elvégzése után akár egy gyengébb kezelés például (200 MPa, 5 perces kezelés esetén) is akár több log-mértékű csökkenést tapasztalható. Ez az inaktiváció akkor valójában a különböző szaporodási fázisokban jellemző eltérő – a mikroorganizmusra jellemző-érzékenységből fakad.

3.5. *Alicyclobacillus acidoterrestris* mikroorganizmussal beoltott alma-és narancslé nagy hidrosztatikai nyomású kezelése

A HHP kezeléseket a 10 ábrán látható, U4000 HP (U 4000, Unipress, Poland) típusú berendezéssel végeztem. A berendezés kamrájának paraméterei a következők voltak: belső átmérője 50 mm × 366 belső magasság volt A berendezéssel kezelhető folyadék mennyisége maximálisan 700 ml és a legnagyobb alkalmazható nyomás 800 MPa.

A hőmérséklet szempontjából nézve, maximum 60 °C fokra fűthető fel, így a kombinált kezeléseket nézve ez volt a maximum.



A berendezés nyomásközvetítő közege 50:50 térfogat százalékos 1,2 propándiol és víz volt. A berendezést előmelegítettem a mérést megelőzően időkapcsoló segítségével. A mérés során az adiabatikus hőmérsékletemelkedés egyik esetben sem haladta meg az 5 °C fokot. A kontroll és a kezelendő anyag kiindulási hőmérséklete a kezelés jellegétől függött, tehát az 50°, 60° C rögzített hőmérsékletű mérés esetén, a kiindulási anyagot is erre a hőmérsékletre melegítettem fel vízfürdőben.

10. ábra Technische Universität Berlin,
Fakultät III.
Fachgebiet Lebensmittelbiotechnologie-
und prozesstechnik
HHP U4000 Unipress, Poland

A HHP kezelés előtt a már beoltott és emelt hőmérséklet esetén az előmelegített leveket 15 ml-es csavaros kupakú műanyag flakonokba töltöttem. A nagy hidrosztatikai nyomású kezelésnél ebben az esetben is figyelni kellett arra, hogy a kupak lezárásánál lehetőleg ne kerüljön levegő a flakonba. Miután megtöltöttem a kis üvegcséket, műanyag tasakba helyeztem őket és teljes vákuummal légmentesen lezártam azokat (Komet PlusVac 23, Germany). Majd belehelyeztem ezt a csomagot a kamrába, és annak ajtajának rázárásával indult a mérés.

Minden mérést háromszori ismétléssel végeztem el. A kezelést követően a már kezelt anyagot tartalmazó műanyag csövecskéket kivettem a kezelőkamrából, majd azonnal jeges vízbe helyeztem, előkészítve azokra a mérésekre, amelyeket még aznap, a nulladik napon végeztem, illetve a többi mintát további felhasználásig 4 °C hőmérsékleten tároltam. A tárolóedényeket, amelyek a kezelt mintát tartalmazták, csak a mérés napján nyitottam ki, így minden egyes tárolási időhöz külön mintacsoport tartozott.

Három különböző hőmérsékletet választottam HHP kezelés esetén, amelyeket rögzítettem. Minden egyes hőmérséklet szint esetén (20, 50, 60 °C) a minták kezelése az összes nyomásszinten megtörtént (200, 400, 600 MPa) 10 perc időtartamig a 2. táblázatban foglalt paraméterek szerint.

2. táblázat U4000 HPHP berendezéssel végzett kezelések paraméterei

	Rögzített hőmérséklet (°C)	Alkalmazott nyomás (MPa)	Kezelési idő (perc)	Tárolási idő (hét)	Hőkezelés
	20	200	10	0	80°C, 10 perc
	50	400		2	
	60	600		4	

3.6. *Alicyclobacillus acidoterrestris* mikroorganizmussal beoltott alma-és narancslé pulzáló elektromos térrel történő kezelése



11. ábra Folyamatos üzemű PEF berendezés
Technische Universität Berlin, Fakultät III.
Fachgebiet Lebensmittelbiotechnologie- und prozesstechnik

A 11. ábrán látható folyamatos üzemű PEF berendezést használtam a méréseimhez a kombinált hő- és PEF kezelések vizsgálatához. Ennek megvalósulásához a rendszerbe 2 hőcserélőt szereltem be, az adagoló tartály és a PEF kezelőtér közé, illetve a kezelőtérből kilépő úton a termék kiadása előtt, hűtés céljából. A mérést savas és vizes tisztítás előzte meg. A mérés kezdetekor az átfolyási sebességet 5,8 l/h-ra állítottam be. A kezelendő mintával megegyező vezetőképességű NaCl oldatot készítettem, és ezt az oldatot átfolyatva állítottam be a kezelési paramétereket:

A vezetőképesség értékeket mindig figyelembe kell venni, mivel meghatározza az alkalmazandó frekvencia értékeket is. Az almalé vezetőképessége $\sigma=2,5$ mS/cm, illetve a narancslé vezetőképessége $\sigma=4,0$ mS/cm volt a méréseim során. Így narancslé esetében alacsonyabb frekvenciatartomány is elegendő volt az almalénál mért hatás eléréséhez.

Három fő kezelési szintet választottam: kis, közép és nagy energiatartású kezelést. A beállított feszültség érték 22kV volt, amit csökkentettem, illetve növeltem a frekvenciaértéktől és vezetőképességtől függően. Az átfolyási sebesség 5,8 l/h volt, továbbá adott volt az áramerősség ($I=3A$).

A mérés során beállított paraméterek: $U = 22 \text{ kV}$ feszültség,
 $[\dot{m}] = 5,8 \frac{\text{l}}{\text{h}}$ átfolyási sebesség
 $\tau = 3 \mu\text{s}$ impulzusszélesség

A paraméterek ismeretében mérés közben számoltam a pulzus energiát:

$$W_{\text{pulzus}} = U \times I \times \tau \quad [W_{\text{pulzus}}] = J$$

A mérés közben a pulzus energia leolvasható volt az oscilloszkóp által adott értékekből is. A pulzus energia, átfolyási sebesség és a kiválasztott frekvencia érték alapján kiszámoltam a mérés során az energiainputot az alábbi képlet alapján:

$$W_{\text{spec}} = \frac{W_{\text{pulzus}} \times f \times 3,6}{\dot{m}}$$

ahol W_{spec} = energia input $[W_{\text{spec}}] = \frac{\text{kJ}}{\text{kg}}$
 W_{pulzus} = pulzus energia $[W_{\text{pulzus}}] = J$
 f = frekvencia $[f] = \text{Hz}$
 $\dot{m}$ = átfolyási sebesség $[\dot{m}] = \frac{\text{l}}{\text{h}}$

Így a kiszámolt energiainputok alapján kiválasztottam három különböző erősségű kezelést és mind a négy hőmérséklet esetében megközelítőleg ugyanazzal az értékkel kívántam a kezelést elvégezni. Így mind narancsra, mind almára változó frekvenciértékeket kellett beállítanom – a vezetőképesség érték és rögzített hőmérséklet különbözősége miatt –, hogy ezek a kiválasztott energiainput szintek teljesülhessenek.

3. táblázat A folyamatos üzemű PEF berendezéssel végzett kezelések paraméterei

Minta jellege	Kezelési paraméterek	Rögzített hőmérséklet	Kezelési paraméterek	Minta jellege
	75 Hz, 160 kJ/kg	20 °C	50 Hz, 150 kJ/kg	
	55 Hz, 110 kJ/kg		40 Hz, 116 kJ/kg	
	35 Hz, 65 kJ/kg		28 Hz, 77 kJ/kg	
	60 Hz, 160 kJ/kg	50 °C	45 Hz, 154 kJ/kg	
	45 Hz, 115 kJ/kg		35 Hz, 117 kJ/kg	
	25 Hz, 61 kJ/kg		25 Hz, 80 kJ/kg	
	55 Hz, 162 kJ/kg	60 °C	45 Hz, 156 kJ/kg	
	40 Hz, 115,5 kJ/kg		35 Hz, 122 kJ/kg	
	22 Hz, 60,5 kJ/kg		22 Hz, 76,5 kJ/kg	
	40 Hz, 163 kJ/kg	80 °C	30 Hz, 150 kJ/kg	
	30 Hz, 117 kJ/kg		23 Hz, 114 kJ/kg	
	16 Hz, 61 kJ/kg		16 Hz, 77 kJ/kg	

A 3. táblázat mutatja a kiválasztott hőmérsékleteken (20, 50, 60, 80 °C) a három különböző kezelési szinten végzett PEF kezelések összefoglalását alma- és narancslé esetében. A nagynyomású (HHP) kezelésekhez hasonlóan, a PEF kezeléseknél is 4 hetes tárolási vizsgálatot végeztem. A kezelések során bekövetkező hőmérsékletváltozás követését kiszámolhatjuk a hőkapacitás segítségével.

25 °C hőmérsékletű folyadék hőkapacitása:

$$[C_{foly}] = 4,1813 \frac{kJ}{kg \times K}$$

Így esetünkben a hőmérsékletváltozás az energiainput és hőkapacitás hányadosaként meghatározható.

3.7. Gyümölcslevek hőkezelése

A hőkezeléses vizsgálataimban 80 °C-on 10 percig történő kezelést választottam az *Alicyclobacillus acidoterrestris* DSMZ 2498 mikroorganizmussal beoltott alma – és narancslevek, kombinált hő- és nagy hidrosztatikai nyomású és pulzáló elektromos térerővel végzett kezelése után mikrobiológiai vizsgálat céljából a spórák és vegetatív sejtek arányának megállapítására.

Erre a célra nagynyomáskezelés esetében Eppendorf 1,5 ml-es műanyag csövecskékbe töltöttem a folyadékot és végeztem el csomagolást követően a nagynyomáskezelést, míg pulzáló elektromos térerővel történő kezelés esetében a kezelés után helyeztem ezekbe a csövecskékbe a már kezelt mintát – átfolyós rendszeréből adódóan –. Az így elkészített mintákat 80 °C-ra előmelegített vízfürdőbe helyeztem 10 percre. Céлом ezzel a vizsgálattal az volt, hogy a kezelések után a túlélő csírszámból meghatározhassam a vegetatív sejtek és spórák arányát. A PEF kezelés után a túlélő csírszámban lehetnek spórák és vegetatív sejtek is, majd a már PEF kezelt mintákat hőkezelés alá vonva, azt csak a spórák élhetik túl, így a két túlélő csírszám különbségének értéke adta meg a vegetatív sejtek számát. HHP kezelés esetében is hasonlóképpen végeztem a számításokat. A mikrobiológiai eredmények között már külön tüntettem fel a túlélő vegetatív- és spóraszámot. A hőkezelésre irányuló általános FDA ajánlások szerint narancslé esetében az egyik legellenállóbb mikroorganizmus az *E. coli* O157:H7 esetében 5 log nagyságú csökkenés szükséges (FDA 2004). Az FDA útmutatásai szerint 3,6-4,0 közötti pH értékű levek esetén a minimum hőmérséklet-idő arány 71,1°C, 3 másodperces kezelési idővel. A viszkózusabb termékek esetében mind a hőmérséklet, mind a kezelési idő növelendő, hogy a kívánt hatást elérhessük. Ipari

viszonylatokat tekintve prémium levek pasztörözésére 90°C-os 2 másodpercig tartó, vagy 84 °C hőmérsékleten 20 másodpercig tartó kezelés a jellemző (MAZZOTTA 2001).

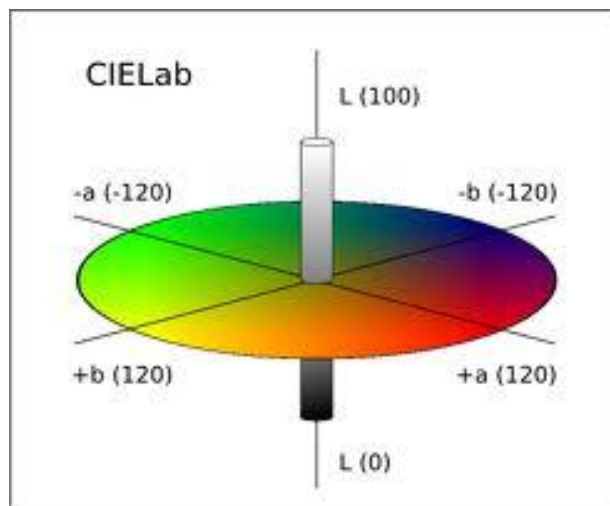
3.8. A mérések során alkalmazott módszerek

3.8.1. Gyümölcslevek fiziko-kémiai mérése

A 100%-os frissen facsart gyümölcslevek (narancs, mandarin, grépfrút) esetében PEF és HHP kezelést követően mértem a kontroll, azaz kezeletlen, PEF- és HHP kezelt levek fiziko-kémiai tulajdonságát. A pH és vezetőképesség mérést Orion-4 Star (Thermo Electron Corporation) konduktométer segítségével végeztem el és a Brix° mérést pedig refraktométer segítségével (Zeiss, Jena, Germany).

A második sorozatban végzett 100% gyümölcstartalmú (alma, narancs) *Alicyclobacillus acidoterrestris* mikroorganizmussal beoltott, majd PEF-, illetve HHP kezelt minták pH mérését Inolab pH 740 (WTW Series, USA) konduktométer, míg a Brix° mérést refraktométer segítségével (RFM 80, Winopal Forschung, Germany) határoztam meg. E tulajdonságokat a beoltott, de kezeletlen, azaz kontroll illetve PEF- és HHP kezelt levekre is mértem, majd a tárolás során is nyomon követtem.

3.8.2. Műszeres színmérés



12. ábra CIELab színingertér számszerűsített ábrája

A kontroll és kezelt gyümölcslevek színmérése egy kézi tristimulus színmérővel szobahőmérsékleten történt (Chromameter, CR 200, Minolta, Japán). A mérés megkezdése előtt a műszert fehér standard-dal kalibráltam. A mérőedényt megtöltve fehér hátlappal merőlegesen tartva végeztem a mérést. Az így kapott L^* , a^* , b^* értékekből a színt a CIELab rendszer alapján határoztam meg (12. ábra), ahol a szín három paraméteréből számolhatom

ki a színínger különbséget, ahol L^* , világosságot, a^* , piros-zöld színbe való átmenetét and b^* , a sárga-kék színbe történő átmenetét jelenti. A teljes színínger különbség ($\Delta E = \sqrt{(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2}$) a feldolgozott termék színváltozásainak különbségét hivatott értékelni a referencia mintával összehasonlítva. A gyümölcslevek mérése háromszori ismétlésben történt. A fent írtak szerint a színínger különbséget kiszámítva a következő tartományokat különböztethetjük meg: nem észrevehető, amennyiben a ΔE érték 0-0,5 közötti; alig észrevehető amennyiben a ΔE érték 0,5-1,5 közötti. A továbbiakban észrevehető a különbség, amennyiben a ΔE érték 1,5-3,0 közötti; jól látható, amennyiben a ΔE érték 3,0-6,0 közötti; illetve jelentős különbséget mutat a színváltozás, amennyiben a ΔE érték 6,0-12,0 közötti. A műszeres színmérés során mindegyik mintánál háromszori mérésismétlést alkalmaztam.

3.8.3. Szerves savak vizsgálata

A méréseket a beoltatlan kontroll, PEF és HHP kezelt citrus gyümölcslevek (narancs, grépfrút, mandarin) mintáin végeztem el. A minták citrom-, alma- és aszkorbinsav tartalmának mérése nagyteljesítményű folyadékkromatográf (HPLC) segítségével történt Alliance Waters 2690 kromatográfiás rendszerrel PDA detektorral (Waters 996) fordított fázison. YMC ODS_AQ típusú oszlopot használtam (ABL; E-Jasco) és az előoszlop ugyanilyen volt. Az eluens áramlási sebességét 0,7 ml/perc értékre állítottam be (KH_2PO_4 2,75 g/l). A citromsav detektálása 412 nm hullámhosszúságon történt, míg az aszkorbinsav esetében ez az érték a 242 nm volt. A mérés szórása $< \pm 5\%$ volt.

3.8.4. Illékony aroma komponensek vizsgálata

A méréseket a beoltatlan kontroll, PEF és HHP kezelt citrus gyümölcslevek (narancs, grépfrút, mandarin) mintáin végeztem el.

Méréseim során az aromaprofil gyors meghatározásának céljából szilárd fázisú mikroextrakciós mintavétel (SPME) történt. A módszer lényege, hogy ebben a dinamikus rendszerben a gőztér illékony anyagát adszorbeáltatjuk, azaz koncentrálnak egy polimeren.

Az SPME módszer alapja, hogy a vegyületek megoszlanak a minta és a gőztérbe merülő bevonatos felület között (KERÉNYI, 2008). Az adszorpció befejeztével a vegyületeket termikus úton deszorbeálják a GC injektor blokkjába további analízishez. Az élelmiszeripari alkalmazásnál különösen fontos és előnyös, hogy a gőztér SPME analízis során a nem illékony komponensekkel nem szennyeződik a rendszer. A mérések során nehéz reprezentatív mintát kapni, olyat, ami egyezik az eredeti gőztér összetételével.

A méréseim során egy PDMS (polidimetil-sziloxán) apoláris szálát használtam, amely 100 μm rétegvastagságú volt (Supleco Inc.). A narancslé esetén JIA és munkatársai (1998) módszerét adaptáltam. 5 ml mennyiségű mintát helyeztem egy 40 ml-es csavaros kupakú csőbe, előfűrt szeptummal. A mintavétel előtt a szálát 10 percen át melegítettem, a szennyeződések elkerülése céljából. Az adszorpciós és deszorpciós idő 20, illetve 1 perc volt. A három mintatartót felmelegítettem egy termosztátban és mágneses keverő segítségével kevertem az oldatot. A mintát a vizsgálat előtt két óra hosszat equilibráltam. A citruslevelek esetében törekedtem arra, hogy a hőhatás ne fedje el a technológiai kezelés hatását, így a termosztát hőmérsékletét 35 °C-ra állítottam be.

Az illékony aromakomponensek elválasztása és azonosítása gázkromatográfiás, tömegspektrometriás módszerrel történt. Ehhez HP 5890 típusú gázkromatográfhoz csatolt HP 5971 tömeg szelektív detektort használtam. Az alkalmazott oszlop RH-5ms 30 m x 0.25 mm belső átmérőjű, 0.25 μm filmvastagságú volt. A vívógázként 4,8-as tisztaságú héliumot használtam. A splitless injektálási időt 1 percre állítottam be. Az oszloptermostát hőmérsékletet 60 °C-on tartottam 1 percig, majd 10 °C perc^{-1} sebességgel 100 °C hőmérsékletig ezt követően 15 °C perc^{-1} sebességgel 200 °C-ig emeltem és a vég hőmérsékleten 8 percig tartottam. A detektor hőmérséklet 280 °C, az injektor hőmérséklete pedig 225 °C volt. A komponensek azonosítása Wiley 275 könyvtár segítségével történt. Tekintettel arra, hogy nem alkalmaztam belső standardet, a relatív csúcsterületeket hasonlítottam össze.

3.8.5. Elektronikus nyelv és elektronikus orr alkalmazása

Annak érdekében, hogy a kezelések során bekövetkező esetleges aromabeli változásokról információt kaphassak, elektronikus orr – és nyelvet is használtam. Az első mérésorozatban a kezelések összehasonlítása, elkülönítése céljából mindkét műszert, míg az *Alicyclobacillus acidoterrestris* mikroorganizmussal beoltott narancs- és almalé vizsgálatához az elektronikus orr műszert alkalmaztam, mivel a HHP és PEF kezelés hatására bekövetkező esetleges változások vizsgálatát is elérni kívántam.

Az elektronikus orr mérések a Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Karának Hűtő-és Állattermék Technológia Tanszékén, míg az elektronikus nyelv mérések a Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Karának Fizika-Automatika Tanszékén történtek.

3.8.5.1. Ízkomponensek változásának mérése elektronikus nyelvvel



13. ábra. Elektronikus nyelv berendezés

Budapesti Corvinus Egyetem
Élelmiszertudományi Kar
Fizika-Automatika Tanszék

A PEF-, illetve HHP kezelés hatásaként esetlegesen bekövetkező ízváltozások mérését a 13. ábrán látható α Astree rendszerű elektronikus nyelv (Alpha-MOS, Toulouse, Franciaország) segítségével végeztem el. A mérés elve, hogy a referencia elektród (3M KCl) és az IFSET alapú elektródok közötti potenciál különbséget mérjük. A mérés során az oldott szerves és szervesetlen vegyületek átjutnak a membránon és potenciálkülönbséget okoznak a szenzorok ion-szenzitív csatornájában. Minden egyes mintának különböző elektrokémiai tulajdonságai vannak, amelyek mérhetők.

Az IFSET alapú szenzorok alkalmasak különböző ízanyagok mérésére, ha azok borítása speciális szerves polimerből készült. A mérés során 7 szenzort alkalmaztam, amelyek kereszt-szenzitivitással rendelkeztek olyan ízanyagokra vonatkozóan, amelyek megtalálhatók élelmiszerekben és üdítőitalokban. A mérési idő 120 sec volt és kilencszeres ismétlést alkalmaztam. Ez az idő mindegyik esetben elegendő volt az eliquilibrium eléréséhez. A mérést követően a szenzorok desztillált vízzel történő tisztítása 30 sec ideig tartott. Az elektronikus jelválaszok jól jellemzik a vizsgált minták ízét. A kiértékeléshez sokváltozós statisztikai analízist alkalmaztam, tekintettel arra, hogy a hét szenzorjelet egyidejűleg kell figyelni és azok adatait feldolgozni.

3.8.5.2. Illékony aroma komponensek vizsgálata elektronikus orr segítségével



14. ábra Elektronikus orr berendezés (NST3320)
Budapesti Corvinus Egyetem
Élelmiszertudományi Kar
Hűtő-és Állattermék Technológiai Tanszék

Az illékony komponensek mérése a 14. ábrán látható NST3320 (Applied Sensor Technology, Linköping, Svédország) típusú elektronikus orr műszerrel történt, amely 23 különböző szenzort tartalmaz a szoftver mellett az adatok gyűjtésének és feldolgozásának céljából. A berendezés 10 katalitikus fémérzékelőt (Metal Oxide Semiconductor Field Effect Transistor; MOSFET), 12 fémoxid félvezetőt (Metal Oxide Semiconductor; MOS) és egy relatív nedvességtartalmat meghatározó szenzort tartalmazott. A mérésekhez tiszta referencia gázként szárítóoszlopon (szilika gél) és aktív szén oszlopon átáramoltatott környezeti levegő szolgált.

A citruslevek mérésénél a gáz áramlási sebességét 50 ml/percre állítottam be. Az elektronikus orr mérési szekvenciája ebben az esetben a minta equilibrium elérése 25 °C hőmérsékleten 15 percig tartott. Az alapvonal felvétele 10 másodperc volt, majd a 20 másodperces mintagáz áramoltatás következett, mialatt a szenzorjelek rögzítésre kerültek. A szenzorok regenerálódási fázisa 260 másodperc volt, a teljes ciklus pedig 300 másodperc volt.

Az *Alicyclobacillus acidoterrestris* mikroorganizmussal beoltott PEF,-illetve HHP kezelt levek analízise során annyi változás volt, hogy az equilibrium elérése 60 °C-on 30 percig tartott, illetve a mintagáz áramoltatási ideje ebben az esetben 45 másodperc időtartamra nőtt. A mintaanalízist követően a szenzorok regenerálódási fázisa 350 másodpercig tartott, a teljes ciklus pedig 430 másodperc volt.

3.8.5.3. Elektronikus orr „drift” kompenzációs modellje

Az *Alicyclobacillus acidoterrestris* mikroorganizmussal beoltott HHP kezelt alma- és narancslé elektronikus orr méréssorozatában is az elektronikus orr által adott jelválaszok kiértékeléséhez többváltozós statisztikai módszert alkalmaztam. Méréseimnél a hosszabb időtartamú elektronikus orr méréseknél az úgynevezett „szenzor drift” problémát is figyelembe kell venni. A driftet úgy lehetne definiálni, mint konstans fizikai és kémiai körülmények alatt kialakuló szenzor jelválaszok időbeli eltolódását (HOLMBERG et al. 1997). A szenzorok meghatározott időnként történő kalibrálása segíthet ezen jelenség kezelésében, amelynek elérése érdekében a kalibrációs minták kondíciójának változásait rögzíteni kell a mérési sorozatok során. Feltételezve azt, hogy a kalibrációs minták aktuális állapota nem, vagy csak kisebb mértékben változna a kezelési idő alatt, a szenzorok jelválaszaiban fellépő eltérések a szenzor driftnek köszönhetőek. Matematikai műveletek segítségével az aktuális minták szenzor jelválaszai kompenzálhatóvá válnak a kalibrációs minták változásainak alapján. Erre a célra sokszorosított drift korrekciót alkalmaztam (MDC), amelyet TOMIC és munkatársai (2004) munkája alapján választottam ki. A módszer azokra a referenciamérésekre támaszkodik, amelyeket a mérési szekvencián belül szabályos intervallumokban mértek. A kiválasztott MDC módszer egy (egyváltozós) módszer, amely minden egyes szenzorra kiegyenlíti a driftet.

TOMIC és munkatársai (2004) megállapították, hogy a referencia minták időbeli jel változásait arra használják, hogy egyedülálló drift kompenzációs modelleket generáljanak minden egyes szenzorra a sorban. A drift kompenzációs modellek a következő regressziós modellen alapulnak:

$$f_{nk} = (a \times n + b)k$$

ahol az f_{nk} egy korrekciós faktort mutat, amely megsokszorozódik a szenzorok, már driftet tartalmazó jelválaszával

(k): A mintaszámot az n jelöli.

a : az a paraméter, amely a mérési szekvencia pozicionálásától függ.

b : az b paraméter értéke mindig 1.

A kalibrációs mintánk az adott gyümölcsle a méréssorozatban (alma, narancs), amelyet a kísérlet kezdetekor lefagyasztottam. Ezek a levek kezeletlen és *Alicyclobacillus acidoterrestris* DSMZ 2498 mikroorganizmussal beoltatlanok. A további mérésekig, analízisig a kalibrációs minták tárolása -20 °C hőmérsékleten történt.

3.8.6. Az *Alicyclobacillus acidoterrestris* mikroorganizmussal beoltott, majd PEF és HHP kezelt gyümölcslevek mikrobiológiai analízise

A nagy hidrosztatikai nyomású kezelést (U4000 típus), illetve a pulzáló elektromos térerővel (folyamatos üzemű berendezés) történő kezelést követően a fizikó-kémiai analízisre szánt mintamennyiség mellett, mind az elektronikus orr, mind a mikrobiológiai analízis elvégzése céljából is mintákat gyűjtöttem.

Ezen vizsgálatok mellett külön mintasorozatot kezeltem, mely során a kezelendő gyümölcsleveket 1,5 ml térfogatú Eppendorf biztonsági záras műanyag tubusokba helyeztem, majd az előírásoknak megfelelően a műanyagba történő csomagolást követően levákuumozva végeztem a HHP kezelést, PEF kezelés esetén természetesen az átfolyó rendszer miatt a kezelt mintát a mérés végén gyűjtöttem le. A méréseket ugyanazokkal a paraméterekkel végeztem, azzal a különbséggel, hogy itt a HHP- és PEF kezelést követően hőkezelt is 80 °C hőmérsékleten 10 perc kezelési idővel, amely során a kis eppendorf tubusokat az előmelegített vízfürdőbe helyeztem. Ez a vizsgálat arra hívatott választ adni, hogy az *Alicyclobacillus acidoterrestris* spórák és vegetatív sejtek aránya hogyan változik a kezeléseket követően. A kezeléseket nézve feltételezésem szerint a HHP kezelés után a spórák és néhány esetben, ahol gyengébb kezelést, azaz alacsonyabb nyomásszintet alkalmaztam, a vegetatív sejtek is túlélhetik ezt a beavatkozást, azonban az ezt követő hőkezelést az utóbbiak már nem. Így mind a HHP illetve a HHP majd hőkezelt mintákat mikrobiológiai analízisnek vettem alá. A mérés megkezdése előtt steril körülményeket biztosítottam a mikrobiológiai fülkében. A tubus tartalmát rázógéppel alaposan összeráztam. 30 µl mintamennyiséget higítási sorban feloldottam ¼ Ringer oldatban (TP887925712, Merck KGaA, Darmstadt, Németország) mikro titerek lemezekén (Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Németország), majd mindegyik higítási egységből 2*50 µl mennyiséget csepegtetési módszerrel a Petri csészébe helyeztem az *Alicyclobacillus acidoterrestris* mikroorganizmusnak megfelelő táptalajra, amely a dolgozatomban már korábban ismertetett A, B és C oldatból állt. Szilárd médium esetén ez: 500 ml "A" oldat, 1 ml "B" oldat, 500 ml "C" oldatotból állt. A petri csészéket 46 °C hőmérsékleten, 48 óráig inkubáltam, majd ennek leteltével a kolóniákat manuálisan számoltam meg.

A HHP kezelt, illetve a HHP és utána hőkezelt minták túlélő mikroorganizmus számából adódó különbség adta a spórák és vegetatív sejtek arányát. Ugyanígy kalkuláltam a PEF kezelés esetén is a spórák és vegetatív sejtek arányával.

3.8.7. Összfenol tartalom meghatározása

Az összfenol tartalom vizsgálatot SINGLETON és ROSSI (1965) által leírt módszer szerint végeztem spektrofotometriás úton (UV-Vis), amely 760 nm hullámhosszúságon történt Folin-Ciocalteu reagens használatával.

A mintákat 80%-os metanollal extraháltam, a szűrlethez Folin-Ciocalteu reagenst majd telített Na_2CO_3 oldatot adagoltam. A mintákat ezután 30 percig sötét helyen állni hagytam, majd spektrofotométeren az abszorbanciát 760 nm hullámhosszúságon mértem vakpróbával szemben. Az összfenol tartalmat galluszsavval készített kalibrációs görbe alapján számítottam ki. Az összes fenol tartalom μg galluszsav/g nyersanyagra vonatkozik. A méréseket háromszori ismételésben végeztem.

3.8.8. Gyökfogó kapacitás meghatározása

A minták gyökfogó aktivitását YAMAGUCHI és munkatársai (1998) módszerével, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) alkalmazásával határoztam meg. A 80 %-os metanolos extrakció után a minták szűrletéhez megfelelő hígítás után DPPH reagenst adtam. A vak mintába a szűrlet helyett desztillált vizet helyeztem. A mintákat 30 percig 37°C-on inkubáltam, majd spektrofotométeren 517 nm hullámhosszúságon, 80%-os metanollal szemben mértem. A kalibrálás Trolox oldat segítségével készült. A gyökfogó aktivitást μMol trolox/g nyersanyag mennyiségben fejeztem ki.

4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELESLÉSÜK

4.1. Fiziko-kémiai tulajdonságok

4.1.1. Beoltatlan citruslevek PEF és HHP kezelés utáni fiziko-kémiai tulajdonságai

A 4. táblázat a három citruslé (narancs, grépfrút, mandarin) fiziko-kémiai paramétereinek (pH, Brix°, vezetőképesség, színanalízis) értékeit mutatja PEF kezelés (28 kV/cm térerősség, 2 μs impulzusszélesség) és HHP kezelés esetében (600 MPa, 5 perc) a kezeletlen, azaz kontroll mintához hasonlítva. Az eredmények értékelésében a megbízhatósági szint 95%. Amint az eredményekben is megmutatkozik, nem volt a pulzáló elektromos térerő, illetve a nagy hidrosztatikai nyomású technológia hatásaként bekövetkező szignifikáns különbség a fiziko-kémiai tulajdonságok terén. A narancs-és grépfrút lé esetében a kontroll (kezeletlen) és a PEF kezelt levek pH értékei ($3,65 \pm 0,01$, illetve $2,96 \pm 0,01$) viszonylag stabilak maradtak, míg HHP kezelés esetében ezen értékek enyhe emelkedést mutattak, amelyek azonban még mindig nem nevezhetők szignifikánsnak. Ezen eredményeket számos korábbi kutatás is alátámasztja (CSERHALMI et al. 2006, SÁNCHEZ-MORENO et al. 2005, BULL et al. 2004).

A Brix° vizsgálata során megállapítottam, hogy értékei viszonylag stabilak maradtak, ezt alátámasztja RIVAS és munkatársai (2006) narancs-sárgarépalével végzett PEF kezelés során elért eredményei, illetve AYHAN és munkatársai (2001) kutatása is, akik 35 kV/cm térerősségű 59 μs ideig tartó PEF kezelés során sem tapasztaltak változásokat.

Ezek alapján megállapíthatjuk, hogy a kezelések nem befolyásoltak szignifikáns mértékben a Brix°, pH, vezetőképesség értékeket.

4. táblázat. Fiziko-kémiai és színparaméterek kontroll, PEF-, illetve HHP kezelt citruslevek esetében.

Minta jellege	Kezelés	°Brix (%)	pH	Vezetőképesség (mS)	Színinger különbség (ΔE)
Narancs	Kontroll	$10,60 \pm 0,01$	$3,65 \pm 0,01$	$3,33 \pm 0,01$	
	PEF-kezelt	$10,60 \pm 0,05$	$3,65 \pm 0,01$	$3,33 \pm 0,01$	$4,8 \pm 0,05$ (látható)
	HHP-kezelt	$10,50 \pm 0,05$	$3,63 \pm 0,01$	nem mért adat	$9,3 \pm 0,05$ (nagy különbség)
Grépfrút	Kontroll	$8,90 \pm 0,05$	$2,96 \pm 0,01$	$3,72 \pm 0,01$	
	PEF-kezelt	$8,90 \pm 0,01$	$2,96 \pm 0,01$	$3,78 \pm 0,01$	$2,8 \pm 0,06$ (észrevehető)
	HHP-kezelt	$8,70 \pm 0,01$	$2,92 \pm 0,03$	nem mért adat	$2,1 \pm 0,05$ (észrevehető)
Mandarin	Kontroll	$10,20 \pm 0,05$	$2,95 \pm 0,01$	$3,50 \pm 0,01$	
	PEF-kezelt	$10,20 \pm 0,01$	$3,00 \pm 0,01$	$3,60 \pm 0,01$	$3,9 \pm 0,05$ (látható)
	HHP-kezelt	$10,20 \pm 0,01$	$2,90 \pm 0,01$	nem mért adat	$2,6 \pm 0,05$ (észrevehető)

A színeredményeket megvizsgálva megállapítottam, hogy a kontroll és kezelt minták között szignifikáns különbségek voltak. A 4. táblázatban a ΔE értékek (színinger különbség értékek) kerültek bemutatásra, tekintettel arra, hogy ez a színvizsgálatoknál a leginkább értelmezhető tényező.

A PEF kezelésnek alávetett citruslevelek közül a kiszámított ΔE^* értékek a táblázat besorolása szerint látható különbségeket mutattak a kontroll és PEF kezelt minták között narancs-, illetve mandarinlé esetében, míg grépfrútlé esetében ez a színváltozás az észrevehető tartományba esett. Az egyes színkomponenseket (L^* , a^* , b^*) az M2 mellékeltben tüntettem fel. PEF kezelés hatására a narancslé ($69,75 \pm 5,01$) és mandarinlé ($65,05 \pm 4,21$) L^* értéke (világossági tényező) megnőtt a kezeletlen mintához képest, tehát a levek színében fakulás volt észrevehető, míg a grépfrútlé esetében ez az érték ellentétes tendenciát mutatott, tehát növekedett. Azok a citruslevelek, amelyeket PEF kezelésnek vetettem alá, a sárgás szín jelleg felé erősebb tendenciát mutattak és kevésbé meghatározót a piros szín jellegére.

Nagynyomású kezelés alkalmazása után a grépfrútlé és mandarinlé esetében a kontroll és HHP kezelt mintákat figyelembe véve a ΔE^* értékek szerint a változás észrevehető volt. Megvizsgálva az egyes színkomponenseket (M2. Melléklet) megállapítottam, hogy szignifikáns különbség adódott a nagynyomással kezelt narancslé színkomponenseit vizsgálva, ahol az L^* ($55,93 \pm 2,26$) értéke és az a^* ($-0,49 \pm 0,04$) értéke csökkent a kontroll mintához képest, amely összhangban áll számos más kutatási eredménnyel (SÁNCHEZ-MORENO et al. 2005, CORTÉS et al. 2008). Ezt a csökkenést a grépfrútlé esetében is megfigyeltem, de a különbség nem volt szignifikáns. Megállapítható, hogy a narancs és grépfrút esetén a HHP kezelés a kontroll mintához képest sötétebb árnyalatú leveket eredményezett. A b^* értékeket vizsgálva szignifikáns különbséget véltem felfedezni, amely abban nyilvánult meg, hogy a nagynyomással kezelt narancslevelek b^* ($13,25 \pm 1,23$) értéke magasabbnak adódott összehasonlítva a kezeletlen mintával.

Megállapítható tehát a fizikó-kémiai tulajdonságok (pH, Brix°, vezetőképesség) vizsgálata kapcsán, hogy sem a beoltatlan, sem a beoltott gyümölcslevelekben a HHP és PEF kezelés nem okozott szignifikáns változást. A színkomponensek vizsgálata során, a világossági tényezőt tekintve megállapítottam, hogy szignifikáns változást okozott a beoltatlan levek PEF kezelése, amely a kezelt levek színének fakulásában nyilvánult meg, míg a HHP kezelt narancs és grépfrútlé esetében a lé sötétedését fedeztem fel.

4.1.2. *Alicyclobacillus acidoterrestris* mikroorganizmussal beoltott alma – és narancslé PEF – illetve HHP kezelést követő fiziko-kémiai tulajdonságai

Az 5. táblázat mutatja az *Alicyclobacillus acidoterrestris* mikroorganizmussal beoltott almalé fiziko-kémiai paraméterek értékeit (pH, Brix, színínger különbség) 95%-os megbízhatósági szinten. A táblázatban a kontroll mintákhoz viszonyított nagynyomású kezelés adatait (200, 400, 600 MPa) tüntettem fel a 0, 14, 28 napos tárolási idő mellett. A narancslére is elvégeztem ezeket a méréseket, amelyeknek számadatai a mellékletek között találhatóak meg (M3). Amint az várható volt nem tapasztaltam szignifikáns változást a pH értékekben, viszonylag stabil maradt még a nyomásszint, illetve hőmérséklet emelése mellett is figyelembe véve a négy hetes tárolási időt.

A PEF kezelés esetében is ez a tendencia volt megfigyelhető. Az eredményeim egyezéseket mutatnak számos olyan tanulmánnyal, ahol a PEF kezelés fiziko-kémiai- és érzékszervi tulajdonságokra kifejtett hatását vizsgálták, így például EVRENDILEK és munkatársai (2000) almalé és törköly PEF kezelése során nem fedeztek fel jelentős különbségeket a fiziko-kémiai tulajdonságokban, míg BARBOSA és munkatársai (1998) megállapították, hogy a pH érték és a C-vitamin koncentrációt nem befolyásolta szignifikáns mértékben a frissen facsart – és koncentrátumból készült almalé PEF kezelése. A mért fiziko-kémiai tulajdonságok analízisét háromszori ismételtsben végeztem. A három sorozatból álló adatsor értékelése varianciaanalízissel, továbbá student t-teszt segítségével történt. A szignifikancia szintet $p \leq 0,05$ fejeztem ki.

5.táblázat *Alicyclobacillus acidoterrestris* mikroorganizmussal beoltott almalé fiziko-kémiai paraméterei HHP kezelés esetén a tárolási idő előrehaladtával

Minta	Tárolási idő (nap)	Kezelés	°Brix (%)	pH	Total colour difference (ΔE)	
Almalé 20 °C	0	Kontroll	10,81±0,02	3,45±0,02	Referencia	
	0	200 MPa	10,92±0,05	3,48±0,02	<i>alig észrevehető</i>	0,74±0,01
	0	400 MPa	10,81±0,03	3,43±0,01	<i>alig észrevehető</i>	0,78±0,02
	0	600 MPa	10,91±0,03	3,48±0,01	<i>alig észrevehető</i>	0,75±0,01
Almalé 20 °C	14	Kontroll	10,83±0,05	3,42±0,01	Referencia	
	14	200 MPa	11,26±0,05	3,40±0,01	<i>alig észrevehető</i>	1,21±0,05
	14	400 MPa	11,93±0,28	3,41±0,02	<i>alig észrevehető</i>	0,96±0,05
	14	600 MPa	11,63±0,15	3,41±0,01	<i>alig észrevehető</i>	0,94±0,04
Almalé 20 °C	28	Kontroll	10,91±0,02	3,52±0,01	Referencia	
	28	200 MPa	11,46±0,23	3,53±0,01	<i>nem észrevehető</i>	0,22±0,04
	28	400 MPa	11,53±0,11	3,53±0,03	<i>alig észrevehető</i>	0,55±0,05
	28	600 MPa	12,56±0,05	3,55±0,01	<i>alig észrevehető</i>	0,52±0,05
Almalé 50 °C	0	Kontroll	10,81±0,03	3,47±0,01	Referencia	
	0	200 MPa	10,86±0,05	3,47±0,01	<i>alig észrevehető</i>	0,64±0,05
	0	400 MPa	10,81±0,03	3,46±0,05	<i>nem észrevehető</i>	0,18±0,05
	0	600 MPa	10,93±0,01	3,46±0,03	<i>nem észrevehető</i>	0,41±0,05
Almalé 50 °C	14	Kontroll	10,85±0,05	3,44±0,05	Referencia	
	14	200 MPa	11,15±0,05	3,45±0,02	<i>alig észrevehető</i>	0,61±0,06
	14	400 MPa	10,83±0,04	3,43±0,01	<i>nem észrevehető</i>	0,49±0,05
	14	600 MPa	10,83±0,05	3,43±0,02	<i>alig észrevehető</i>	0,51±0,06
Almalé 50 °C	28	Kontroll	10,81±0,05	3,48±0,02	Referencia	
	28	200 MPa	10,83±0,05	3,48±0,01	<i>alig észrevehető</i>	0,82±0,04
	28	400 MPa	10,81±0,05	3,49±0,02	<i>alig észrevehető</i>	0,85±0,03
	28	600 MPa	10,79±0,06	3,48±0,02	<i>alig észrevehető</i>	0,81±0,05
Almalé 60 °C	0	Kontroll	10,83±0,05	3,41±0,03	Referencia	
	0	200 MPa	10,75±0,05	3,39±0,01	<i>alig észrevehető</i>	0,84±0,05
	0	400 MPa	10,96±0,11	3,39±0,02	<i>alig észrevehető</i>	0,86±0,05
	0	600 MPa	11,00±0,11	3,41±0,02	<i>alig észrevehető</i>	0,94±0,05
Almalé 60 °C	14	Kontroll	10,73±0,05	3,37±0,01	Referencia	
	14	200 MPa	10,85±0,05	3,34±0,01	<i>nem észrevehető</i>	0,31±0,06
	14	400 MPa	11,06±0,05	3,36±0,02	<i>nem észrevehető</i>	0,24±0,05
	14	600 MPa	10,83±0,05	3,37±0,01	<i>nem észrevehető</i>	0,34±0,05
Almalé 60 °C	28	Kontroll	10,73±0,05	3,37±0,05	Referencia	
	28	200 MPa	10,85±0,05	3,34±0,01	<i>alig észrevehető</i>	0,64±0,04
	28	400 MPa	11,06±0,04	3,36±0,02	<i>nem észrevehető</i>	0,41±0,04
	28	600 MPa	10,83±0,04	3,37±0,01	<i>nem észrevehető</i>	0,28±0,05

A szín vizsgálata ebben a mérésorozatban azért is fontos volt, mivel az *Alicyclobacillus sp.* a lé enyhe zavarosságát idézheti elő (BROWN 1995). A táblázatban a ΔE értékeket tüntettem fel, amely összességében adja meg a színingerkülönbség értékét. Megállapítható volt, hogy csak alig észrevehető különbségek adódtak a kezelt levek esetében, a kontroll mintához viszonyítva, mind PEF, mind HHP kezelés esetében. A HHP illetve PEF kezelések esetén a részletesebb színvizsgálatok eredményei az almalé L^* értékre vonatkozóan a 15. és

16. ábrán, a b^* értékére a 19., 20., míg a^* értékre vonatkozóan a 23. és 24. ábrán található meg. Narancslé esetében az L^* értékre vonatkozóan a 17. és 18. ábrán, a b^* értékére a 21., 22., míg a^* értékre vonatkozóan a 25. és 26. ábrán található meg.

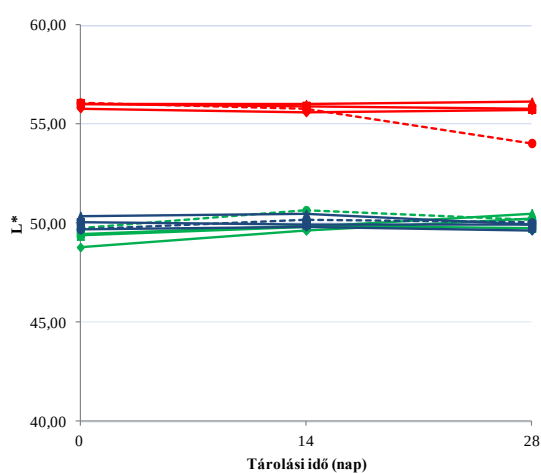
A mikroorganizmussal beoltott alma és narancslé fiziko-kémiai tulajdonságai (pH, Brix°, vezetőképesség) tehát nem változtak a PEF és HHP kezeléseket követően. A számolt színingerkülönbség értékek (ΔE) nem mutattak jelentős eltérést, de ennek pontosabb vizsgálata céljából az egyes színek komponensek változásai is a következő alponban bemutatásra kerülnek.

4.2. Egyes színek komponensek változása a kezelési paraméterek függvényében a tárolási idő előrehaladtával

A 15.-26. ábrákon az almalé és narancslé L^* , a^* , b^* értékeinek változását tüntettem fel a tárolási idő függvényében (0, 14, 28 nap), HHP kezelés esetén mind a három, míg PEF kezelés esetén mind a négy kezelési hőmérsékleten. Az ábrán a különböző színek, különböző kezelési hőmérsékleteket jelölnek, így a zöld szín a 20 °C, a kék szín az 50 °C-ot, a piros szín pedig a 60 °C rögzített hőmérsékletet jelöli a HHP és PEF kezeléseket esetében, illetve a PEF kezeléshez egy 80 °C kezelési hőmérséklet is tartozik. Mindegyik hőmérséklet szinthez 4 adat tartozik: a kontroll, 1., 2., 3. kezelési szint mind a PEF -, mind a HHP kezelés esetén.

A három különböző kezelési szintet különböző szimbólumokkal, míg a kontroll, kezeltetlen mintákat pedig szaggatott vonallal jelöltem.

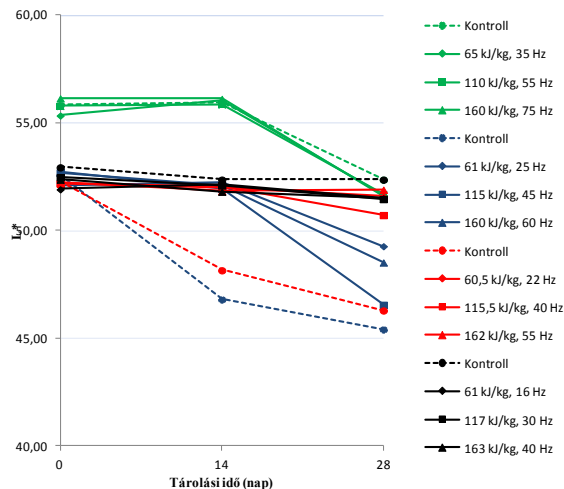
A 15. és 16. ábrákon almalé esetén mutatom be az L^* érték változását a tárolási idő függvényében mindhárom hőmérséklet esetén PEF és HHP kezelés hatására



15. ábra Almalé L^* értékei HHP kezelés során

● – kontroll minta, ◆ – 200 MPa, ■ – 400 MPa, ▲ – 600 MPa

20 °C, 50 °C, 60 °C



16. ábra Almalé L^* értékei PEF kezelés során

● – kontroll, ◆ – kis, ■ – közepes, ▲ – nagy télerő

20 °C, 50 °C, 60 °C, 80 °C

Az 5. táblázatban bemutatott kis ΔE értékek ellenére a részletesebb színvizsgálatok kimutatták, hogy a mérés után az L^* értékek, amelyek a vizsgált minta világosságának mutatószámai, növekedtek a hőmérsékletszint emelésével. Csak néhány példát kiemelve például nagy hidrosztatikai nyomással történő kezelés során kontroll almalé minták esetében a „0” napos tárolási adatokban, 20°C, 50°C, 60°C kezelési hőmérséklet alkalmazásával az L^* értékek a következőképpen alakultak a fent említett sorrend szerint: $49,75 \pm 0,07$; $50,15 \pm 0,05$; and $55,65 \pm 0,03$. PEF kezelés esetén a növekvő hőmérsékletszint szerint ezek az értékek a következők voltak (kiegészülve a 80 °C-kal): $55,80 \pm 0,05$; $52,58 \pm 0,05$; $52,25 \pm 0,09$; $52,30 \pm 0,05$.

Ha más kezelési szinteket vizsgálunk, akkor megállapíthatjuk, hogy hasonlóképpen alakultak az eredmények. Ha a kezelést a legalacsonyabb, azaz 200 MPa nyomáson végeztem és az L^* értéket vizsgáltam a nulladik tárolási napon almalé esetében akkor is az eredmények az emelkedő hőmérséklettel (20°C, 50°C, 60°C) párhuzamosan a következőképpen alakultak: $48,79 \pm 0,02$; $49,69 \pm 0,05$; $55,70 \pm 0,05$. Ezek a változások minden valószínűség szerint a Maillard-reakciónak köszönhetők.

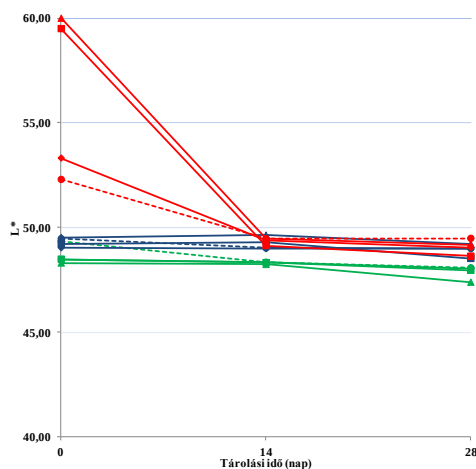
Almalé PEF kezelése esetén a legalacsonyabb térerősségeket alkalmazva (61 kJ/kg-65 kJ/kg), az emelkedő hőmérséklettel (20°C, 50°C, 60°C, 80°C) az L^* érték a következők voltak: $55,34 \pm 0,02$, $52,16 \pm 0,03$, $52,10 \pm 0,11$, $51,92 \pm 0,08$. (Megj: az emelkedő hőmérséklet miatt változó vezetőképességből adódóan nem ugyanazok a befektetett energiaértékek).

Tehát míg a HHP kezelés során egy adott nyomásszint alkalmazásával, de emelkedő hőmérséklettel az L^* értéke nő, -tehát világosodik a lé-, addig a PEF kezelés során egy adott térerősség alkalmazása mellett, az emelkedő 4 hőmérsékletszinttel együtt az L^* értéke csökken, tehát a lé kismértékű sötétedése figyelhető meg.

A fent említett esetekben azt is megállapítottam, hogy a HHP kezelt levek 14, illetve 28 napos tárolásával az L^* értékek nem változtak jelentősen, míg a PEF kezelt esetében szignifikáns változások voltak. Ehhez nyilván az is hozzájárul, hogy ebben az esetben, tehát 20 °C kezelési hőmérséklet mellett a PEF kezelés során az *Alicyclobacillus acidoterrestris* száma nem csökkenthető jelentősen, mivel a spórákra nem hat a kezelés ilyen alacsony hőmérsékleten és a vegetatív sejtekben sem értem el jelentős csökkenést. Így a mikroorganizmus a jelenlétével már ronthatja a lé érzékszervi tulajdonságait.

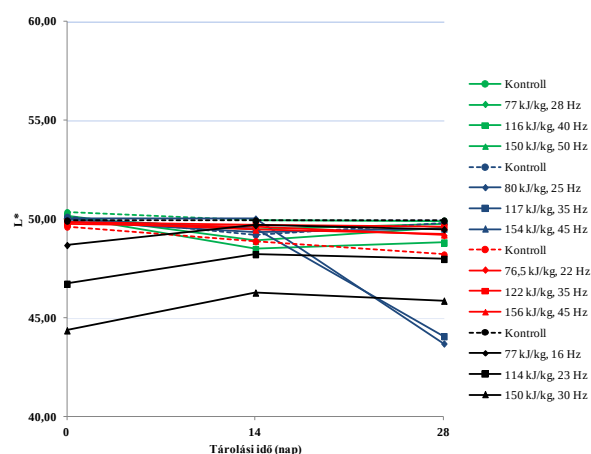
PEF kezelés esetében az L^* értékek alapján elmondható, hogy a szobahőmérsékleten kezelt minták magasabb világossági értékkel rendelkeznek. Az 50, illetve 60 °C hőmérsékletű kezeléseknél a kontroll minták L^* értéke a 0. tárolási napon nem változik jelentősen a kezelések hatására sem, de a tárolás során jelentős eltérések adódtak. Kisebb mértékű

csökkenés figyelhető meg a 14 napos tárolás során, és a 28. tárolási napra ez az érték már szignifikánsnak mondható.



17. ábra Narancslé L*értékei HHP kezelés során

● – kontroll minta, ◆-200 MPa, ■-400 MPa, ▲-600 MPa
20 °C, 50 °C, 60 °C

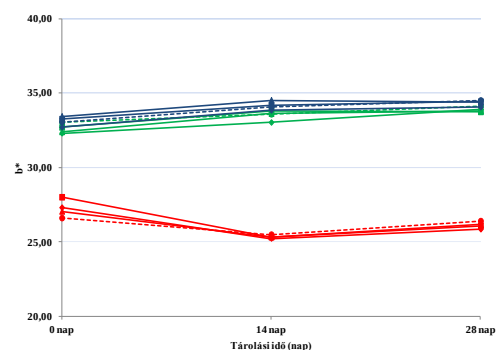


18. ábra Narancslé L*értékei PEF kezelés során

● – kontroll, ◆-kis ■-közepes, ▲-nagy térő
20 °C, 50 °C, 60 °C, 80 °C

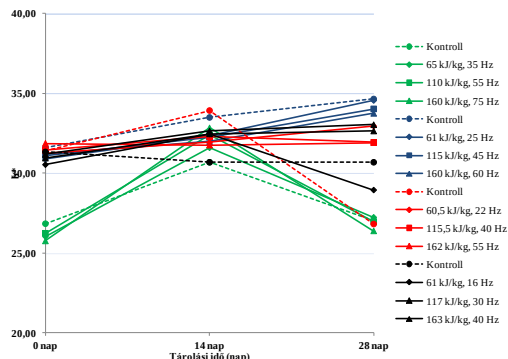
A 17. és 18. ábrákon a narancslé esetében látható az L* változása a kezelés hatására. A 15. és 16. ábrán bemutatott almalevek L* értékeihez hasonlóan alakult a narancslevek esetén ez a színjellemző, miszerint nagynyomású, magasabb hőmérsékleten végzett kezelés világosabb, élénkebb színátmenetű mintákat eredményezett, míg a legmagasabb hőmérsékleten (80°C) végzett PEF kezelés kevésbé világos színt eredményezett.

A 19. és 20. ábrában almalé esetén mutatom be az b* érték változását a tárolási idő függvényében mindhárom hőmérséklet esetén HHP és PEF kezelés hatására.



19. ábra Almalé b*értékei HHP kezelés során

● – kontroll minta, ◆-200 MPa, ■-400 MPa, ▲-600 MPa
20 °C, 50 °C, 60 °C

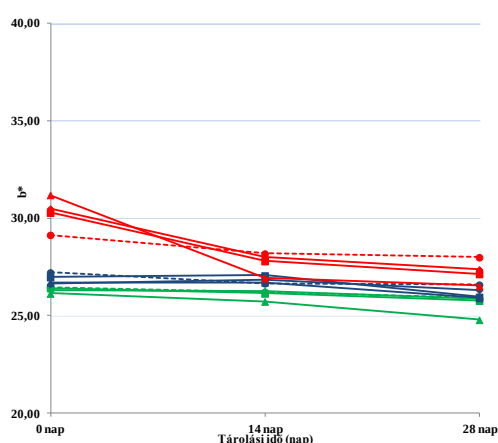


20. ábra Almalé b*értékei PEF kezelés során

● – kontroll, ◆-kis ■-közepes, ▲-nagy térő
20 °C, 50 °C, 60 °C, 80 °C

Almalé esetében a magasabb hőmérsékleten (60°C) végzett nagynyomáskezelés következtében a termék sárga szín intenzitása jelentősen csökkent, míg a kisebb (20, 50 °C) hőmérsékleten végzett kezelés esetében nem tapasztaltam jelentős eltérést még a nyomásszint emelése és a tárolási idő előrehaladtával sem. A PEF kezelés során azt tapasztaltam, hogy a legalacsonyabb, azaz 20 °C-os kezelési hőmérséklet alkalmazásával volt a legalacsonyabb a b^* érték. Ez a 0 tárolási napon a növekvő térerőintenzitással egyetemben a következőképpen alakult: $26,84 \pm 0,01$; $26,03 \pm 0,02$; $26,14 \pm 0,01$; $25,76 \pm 0,04$. A 60 és 80 °C kezelési hőmérséklet esetén közel azonos b^* értékeket kaptam.

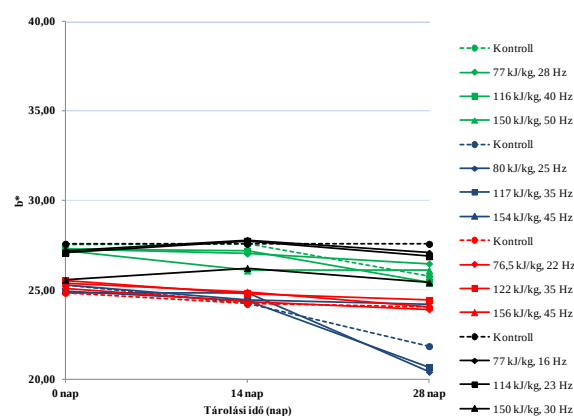
A 21. és 22. ábrában kezelt narancslé b^* érték változása látható a kontroll mintához viszonyítva a tárolási idő függvényében mindhárom hőmérséklet esetén HHP és PEF kezelés hatására.



21. ábra Narancslé b^* értékei HHP kezelés során

● – kontroll minta, ◆ –200 MPa, ■ –400 MPa, ▲ –600 MPa

20 °C, 50 °C, 60 °C



22. ábra Narancslé b^* értékei PEF kezelés során

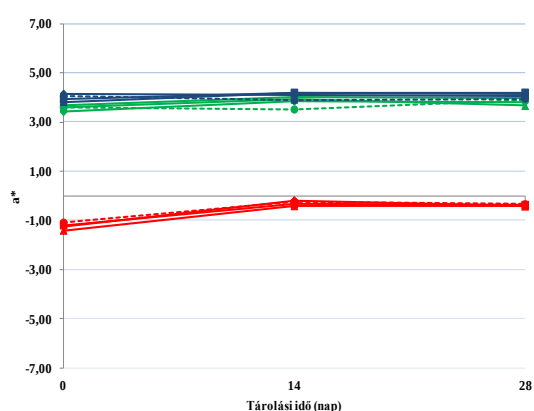
● – kontroll, ◆ –kis, ■ –közepes, ▲ –nagy térerő

20 °C, 50 °C, 60 °C, 80 °C

Narancslé esetében az almalénél tapasztalt mértékű szétválás nem volt megfigyelhető az egyes hőmérsékletszintek között. Ami viszont szembetűnő volt a két lé esetében, hogy a legmagasabb hőmérsékletű (60 °C) HHP kezelés az almalében a legalacsonyabb b^* értéket mértem, míg narancslé esetében a legmagasabbat.

A PEF kezelések esetén különböző hőmérsékleten kezelt minták között jelentős különbséget nem tapasztaltam, azonban észrevettem, hogy a 28. tárolási napra szétváltak ezek az eredmények, mindegyik esetben a b^* értékben csökkenés volt a 0. és 14. tárolási naphoz képest. CORTÉS és munkatársai (2008) illetve LEE és COATES (2003) is vizsgálták PEF kezelt narancslevelek b^* értékében bekövetkezett változásait. Utóbbiak megállapították, hogy narancslé 30 kV/cm térerősségű, 100 μ s idejű kezelése során a b^* értéke ($53,62 \pm 0,57$) magasabb volt a kezeletlen mintáénál ($50,73 \pm 0,67$).

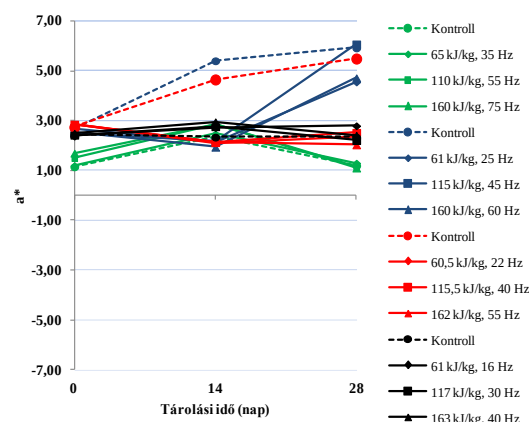
A 23. és 24. ábrában az almalé a^* érték változása látható a tárolási idő függvényében mindhárom hőmérséklet esetén HHP és PEF kezelés hatására.



23. ábra Almalé a^* értékei HHP kezelés során

● – kontroll minta, ◆-200 MPa, ■-400 MPa, ▲-600 MPa

20 °C, 50 °C, 60 °C



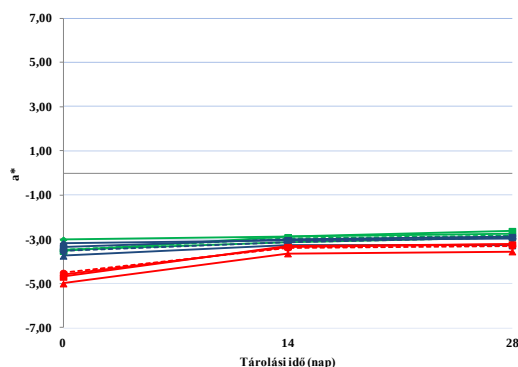
24. ábra Almalé a^* értékei PEF kezelés során

● – kontroll, ◆-kis ■-közepes, ▲-nagy térerő

20 °C, 50 °C, 60 °C, 80 °C

A színkomponensek elemzésénél az a^* érték a piros és zöld szín közötti átmenetet mutatja. Almalé esetében a 20-, illetve 50 °C-on végzett HHP kezelések esetén összetartóbbak a minták eredményei a 60°C-os kezelésekhez képest. A fent említett két hőmérsékletnél a kontroll mintához viszonyítva emelkedést figyeltem meg az a^* értékben, az alkalmazott nyomás intenzitásától függően. A 60°C-os mintákat vizsgálva látható, hogy a kezeletlen mintához képest csökkent az a^* értéke a növekvő nyomás hatására, nagyobb hőmérsékleten egyre inkább csökkent a kezelt almalé piros szín intenzitása. Ez látható a diagram mínusz előjeléből is. A 20 °C hőmérsékleten végzett PEF kezelések a^* értéke volt a legkisebb. Ha megvizsgáltam a hőmérsékleten belül az eltérő PEF kezelési szintek a^* -ra gyakorolt hatását, akkor azt tapasztaltam, hogy a növekvő térerő intenzitással az a^* értéke emelkedik a következők szerint (kontroll, 65 kJ/kg, 35 Hz; 110 kJ/kg, 55 Hz; 160 kJ/kg, 75 Hz) a^* = 1,15; 1,20; 1,50; 1,70. Mindemellett a 60 és 80 °C –os kezeléseknél azt tapasztaltam, hogy a különböző intenzitással kezelt minták átfedésben vannak.

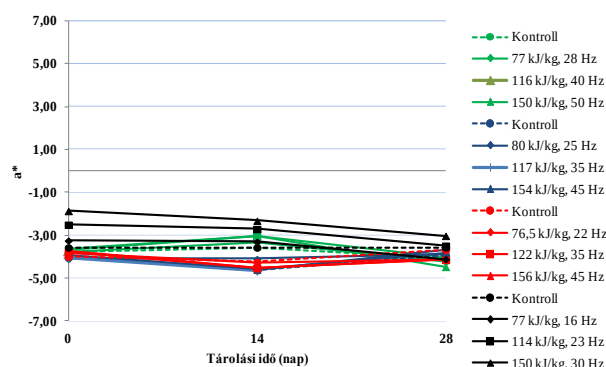
A 25. és 26. ábrában a narancslé a^* érték változását mutatom be a tárolási idő függvényében mindhárom hőmérséklet esetén HHP és PEF kezelés hatására.



25. ábra Narancslé a^* értékei HHP kezelés során

● – kontroll minta, ◆ – 200 MPa, ■ – 400 MPa, ▲ – 600 MPa

20 °C, 50 °C, 60 °C



26. ábra Narancslé a^* értékei PEF kezelés során

● – kontroll, ◆ – kis, ■ – közepes, ▲ – nagy térerő

20 °C, 50 °C, 60 °C, 80 °C

A HHP kezelt narancslevet megvizsgálva elmondható, hogy az a^* értékek a kezelési hőmérséklet emelésével fokozatosan csökkennek, tárolás során azonban jelentős változás nem történt. Egy adott kezelési hőmérsékleten belül, például a 60 °C esetén, a nyomás növelésével tendenciaszerűen csökken az a^* érték.

A PEF kezelések esetén is észrevehető a hőmérsékletbefolyásoló szerepe, az a^* értékek csökkennek, de 80 °C hőmérsékleten pont ellentétes eredményt kaptam, ahol általában a térerő intenzitás emelésével az a^* érték megnőtt, amely aztán a tárolás során újra csökkent.

Az egyes színkomponenseket vizsgálva megállapítottam, hogy míg a HHP kezelés során adott nyomásszintek alkalmazásával, emelkedő hőmérséklet mellett az L^* értéke nő – tehát világosodik a lé –, addig a PEF kezelés során különböző térerősségek alkalmazásával az emelkedő 4 hőmérsékletszintet figyelembe véve az L^* értéke csökken, tehát ebben az esetben a lé sötétedik. A b^* értéket vizsgálva megállapítható, hogy a 60°C hőmérsékleten végzett HHP kezelés követően a termék sárga színintenzitása jelentősen csökkent, ellentétben az alacsonyabb hőmérséklet szintekkel, míg PEF kezelés esetében a 20°C kezelési hőmérséklet alkalmazása eredményezett alacsony b^* értéket. Az a^* érték, amely a piros és zöld szín közötti átmenetet mutatja, mind narancslé, mind almalé esetében a növekvő nyomás hatására, emelkedő hőmérséklettel csökkenő tendenciát mutatott a HHP kezelést követően, tehát a piros színintenzitás gyengült. Viszont, a PEF kezelés során alkalmazott eltérő térerő intenzitás növelésével az a^* érték emelkedő tendenciát mutatott.

4.3. Szerves savak vizsgálata kontroll, PEF és HHP kezelt beoltatlan gyümölcslevek (narancs, grépfrút, mandarin) esetében

A 6. táblázatban tüntettem fel az almasav, citromsav és aszkorbinsav tartalom értékeit kezeletlen, PEF- és HHP kezelt citruslevek esetén. A savtartalom analízisére vonatkozólag megállapítottam, hogy a PEF és HHP kezelt gyümölcslevek alma- és citromsav tartalma a kezelések következményeként szignifikánsan nem csökkent. A minták aszkorbinsav tartalmában csekély változás volt megfigyelhető, de a kezelés előnyeként említhető, hogy a C vitamin tartalom stabil maradt, amely korábbi vizsgálatokkal is alátámasztható és hasonlóságot mutat (CSERHALMI et al. 2006).

6.táblázat. Gyümölcslevek szerves sav tartalma kontroll, PEF-, illetve HHP kezeléseket követően

Minta	Kezelés	Almasav (mg/l)		Citromsav (mg/l)		Aszkorbinsav (mg/l)	
Narancs	Kontroll	847,50 ±	70,06 ^a	5290,73 ±	207,48 ^a	511,59 ±	2,04 ^a
	PEF-kezelt	826,24 ±	0,09 ^a	5222,57 ±	63,59 ^a	520,64 ±	12,93 ^a
	HHP-kezelt	755,77 ±	53,83 ^a	5207,17 ±	254,89 ^a	526,29 ±	17,64 ^a
Grépfrút	Kontroll	537,42 ±	49,00 ^a	9923,92 ±	80,86 ^a	421,18 ±	0,79 ^a
	PEF-kezelt	494,71 ±	5,09 ^{ab}	9833,22 ±	59,90 ^a	411,38 ±	6,96 ^{ab}
	HHP-kezelt	452,75 ±	49,87 ^b	9751,39 ±	111,82 ^a	405,42 ±	5,56 ^b
Mandarin	Kontroll	903,08 ±	112,20 ^a	341,41 ±	1,41 ^a	6318,03 ±	175,56 ^a
	PEF-kezelt	944,02 ±	3,55 ^a	346,45 ±	1,15 ^a	6557,13 ±	7,03 ^a
	HHP-kezelt	1191,20 ±	105,92 ^b	386,49 ±	12,33 ^b	7596,88 ±	171,62 ^b

A pulzáló elektromos térerővel, vagy nagy hidrosztatikai nyomású technológiával kezelt levek C-vitamin tartalmának stabilitását számos kutató vizsgálta (YEOM et al. 2000a, FERNÁNDEZ GARCÍA et al. 2000, MIN et al. 2003, BULL et al. 2004). Másrésről viszont SÁNCHEZ (2005), ELEZ-MARTÍNEZ, (2007) az aszkorbinsav szignifikáns degradációját mutatták be, amelyet részben a folyamat során elért hőmérsékelt emelkedésének tulajdonítottak. Tekintettel arra, hogy a C-vitamin hőérzékeny, ebből adódóan a hőmérséklet jelentős mértékben befolyásolhatja tartalmának csökkenését (ELEZ-MARTÍNEZ et al. 2007).

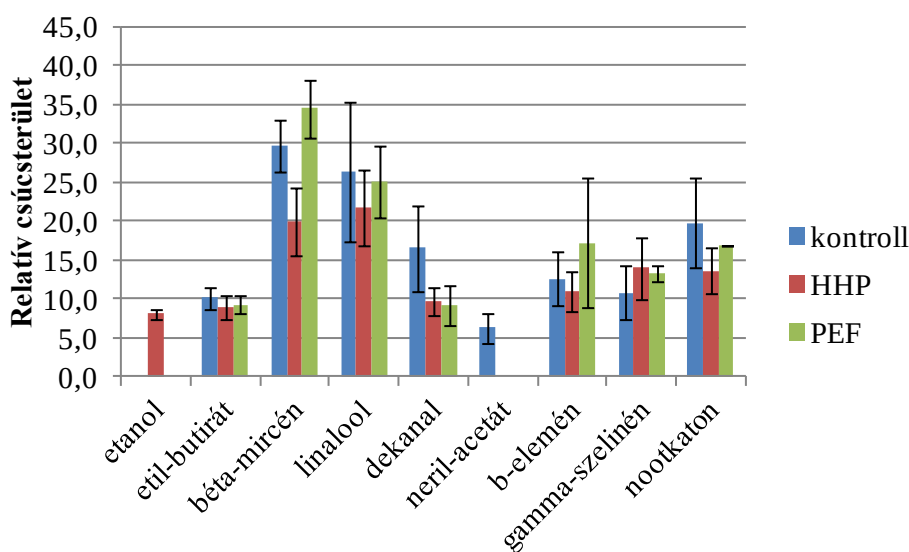
A dolgozatomban bemutatott levek közül az almasav mennyisége narancs és grépfrútlé esetében csökkent, PEF kezelés alkalmazása mellett narancs esetén 2,5%-kal, illetve grépfrútlé esetében 7,95%-kal. A HHP kezeléssel ugyanezek az értékek 10,86%, illetve 15,76% mértékű csökkenést jelentettek. A citromsav vizsgálatánál az imént említett 2 gyümölcslé esetén a PEF kezelésnél 1,29%, illetve 1,5%, míg a HHP kezelésnél 1,6%, illetve 1,7% mértékű csökkenést tapasztaltam. Mandarin esetében mind az almasav, mind a citromsav és aszkorbinsav mennyisége növekedett, ez kapcsolatban lehet azzal a jelenséggel,

amit az aromavizsgálatoknál is tapasztaltunk, miszerint a kezelések hatására több aromakomponens szabadult fel, elképzelhető, hogy itt is ez történt.

Tehát a PEF kezelést követően a szerves savak tartalma kevésbé csökkent a citruslevekben a HHP kezelt levekhez viszonyítva. A kezeléseket követő megnövekedett savtartalom egyes esetekben összefügghet a felszabaduló aromakomponensek feldúsulásával.

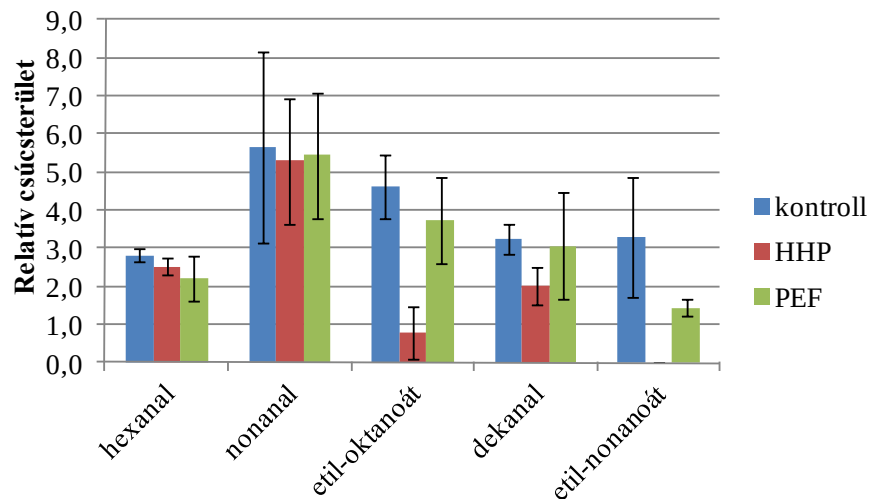
4.4. Illékony aromakomponensek beoltatlan kontroll, PEF és HHP kezelt gyümölcslevek (narancs, grépfrút, mandarin) esetében

A főbb aromakomponensek számszerűsített eredményeit a Mellékletben található táblázat mutatja be (M4). Az aromaanalízis eredményei alapján megállapítható, hogy a PEF kezelés hatására az etil-észterek mennyisége nem csökkent, illetve a narancslé illékony aromakomponensei közül az etil-butirát, linalol mennyiségének csökkenése nem volt szignifikáns (27. ábra). A HHP kezelés során azonban ezt a két aromakomponenst vizsgálva csökkenést állapítottam meg.

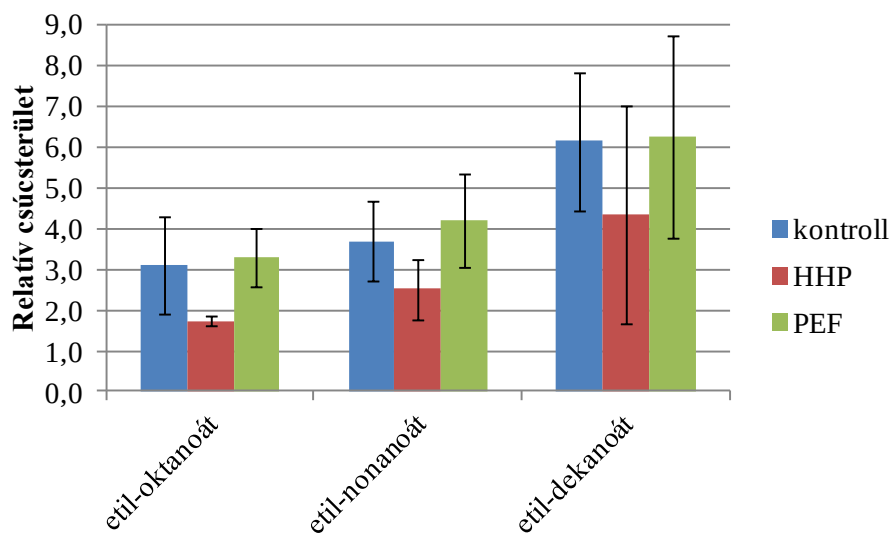


27. ábra Narancslé fő aromakomponensei

Megfigyeléseimhez hasonló kutatási eredményeket is találtam, például JIA és munkatársai (1999) a dekanal mennyiségében nem tapasztaltak jelentős csökkenést, amikor 30 kV/cm térerősségű, 240 μ s, illetve 480 μ s időtartamú kezelést alkalmaztak. Ugyanezekkel a paraméterek alkalmazása mellett, az etil butirát mennyiségében 5,1% és 9,7% (kezelési időtartamtól függő) mértékű csökkenést észleltek.



28. ábra Grépfrútlé fő aromakomponensei



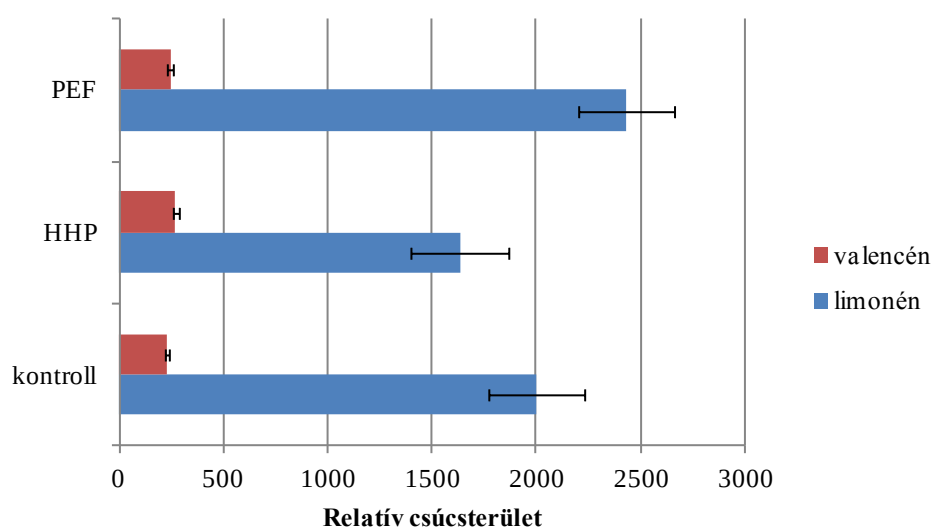
29. ábra Mandarin aroma észter komponensei

A grépfrútlé (28. ábra) és mandarinlé (29. ábra) esetében a főbb illékony aromakomponensek ábrázolásánál megfigyeltem, hogy a kontroll mintához viszonyítva csökkent az aroma észterek mennyisége a HHP kezelt mintákban, míg a PEF kezelés esetében vagy nem változott a mennyiségük jelentősen, mint például az etil-dekanoát esetében, vagy növekedett. AGUILÓ-AGUAYO és munkatársai (2010) PEF és hőkezelt dinnyelevelék illékony aroma komponenseit vizsgálták és azt tapasztalták, hogy a 35kV/cm térerősségű, 1727 μ s időtartamú PEF kezelés esetén, a hexanal és nonanal mennyiségében jó aromamegőrzést értek el 90 C hőmérsékleten 30 másodpercig tartó hőkezeléshez viszonyítva. A 27. ábrán látható, hogy mind a két illékony komponens, de főleg a nonanal

esetében a kezelések nem befolyásolták jelentősen a tartalmukat, ami a HHP és PEF kezelés előnyeként jelenik meg.

A narancslé esetében (30. ábra) a főbb terpén komponensek közül, az egyik, nevezetesen a limonén mennyisége a PEF kezelés során a kezeletlen mintához képest magasabbnak adódott. Ez a jelenség a PEF kezelés egyik hatásaként figyelhető meg, miszerint maga a kezelés kisebb részecskeméretet eredményezhetett a gyümölcslében, és ennek következményeképpen több aroma komponens szabadulhat fel a gyümölcsből, így az illékony komponensek sokkal intenzívebbé válhatnak.

A nagy hidrosztatikai nyomás esetében viszont a limonén szint alacsonyabb volt, viszont a valencén szint magasabb (30. ábra). Ezt a jelenséget megfigyelte számos kutató, amelyet „aromaskalpolásnak” neveztek. A korábbi tanulmányok alapján (SAJILATA et al. 2007; MAURICIO-IGLESIAS et al. 2011) jól ismert, hogy minőségbeli változások léphetnek fel a becsomagolt élelmiszerek HHP kezelése esetén, az élelmiszer és a csomagolás közötti olyan kölcsönhatásoknak köszönhetően, mint az áthatolási képesség, szorpció, szivárgás, vagy migráció. E kölcsönhatások között az aromaskalpolást nevezték egy olyan fő tényezőnek, amely az érzékszervi tulajdonságokat befolyásolhatja. Jelen vizsgálataimban, tehát, a HHP kezelt levek estén a limonén szint alacsonyabb volt, a kontroll mintához képest. Ebben az esetben az aromaskalpolás jelensége jelentheti a terpének abszorpcióját a műanyag csomagolásban.



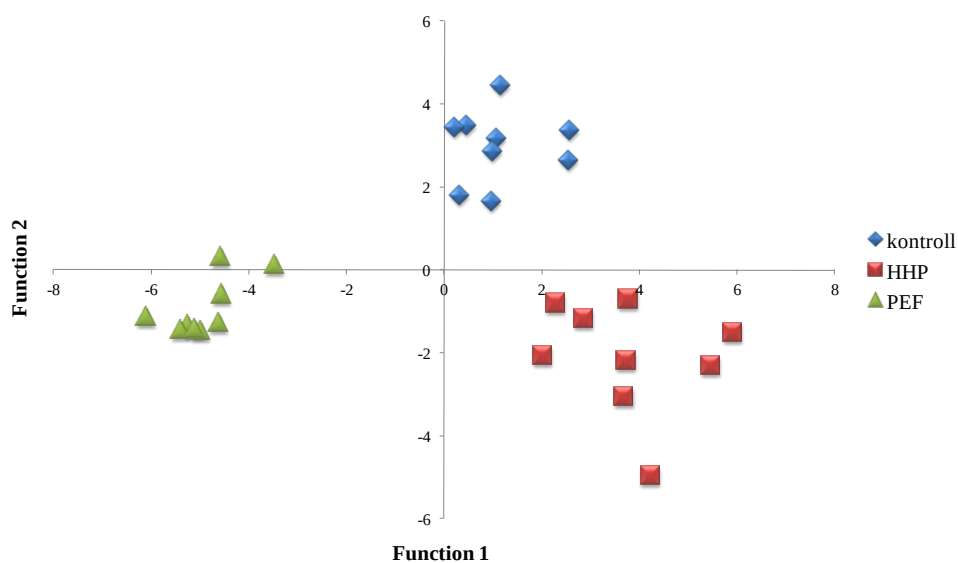
30. ábra Főbb terpének változása narancslében a kontroll, PEF és HHP kezelés hatására

Az illékony aromakomponensek vizsgálatánál megállapítható volt, hogy az etil észterek mennyisége nem csökkent PEF kezelést követően. A főbb terpének esetében narancslé

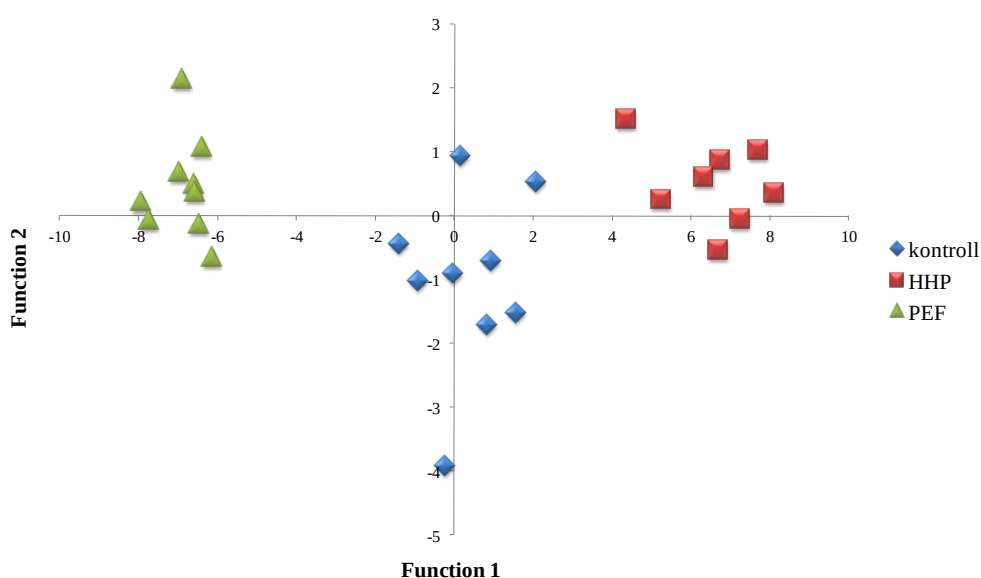
mintákban megemelkedett limonén szintet mértem, amely a PEF kezelés hatására kialakuló apróbb szemcseméreteknek köszönhető. Mindamellett ez a szint a HHP kezelést követően csökkent, a valencén mennyiségének növekedése mellett. Mindezek az aroma skalpolás jelenségét hivatottak bemutatni.

4.5. Elektronikus orr- és nyelv segítségével végzett mérések eredményei

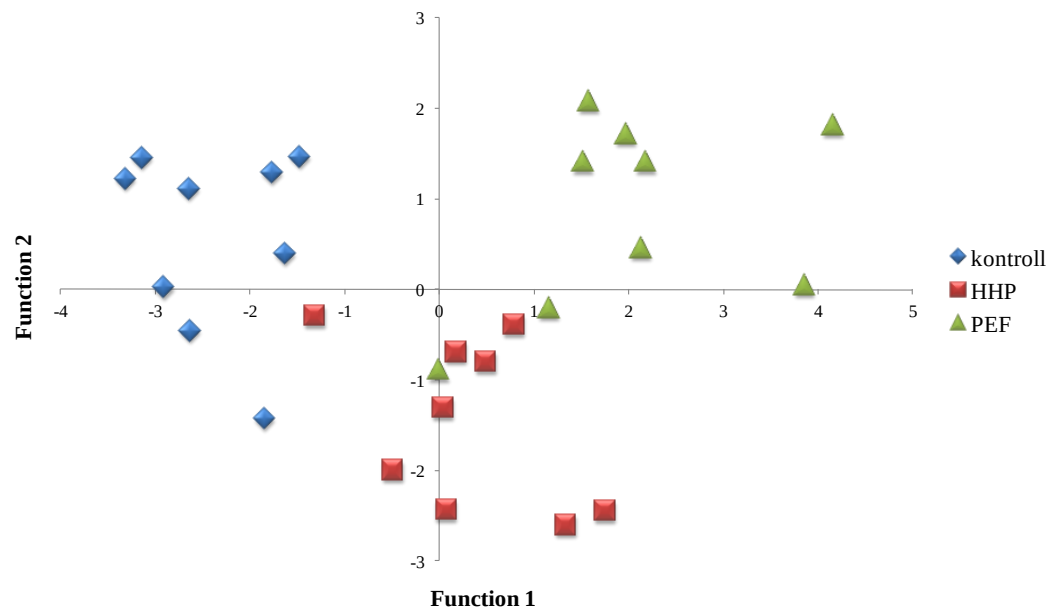
4.5.1 Beoltatlan citruslevek (narancs, grépfrút, mandarin) PEF-és HHP kezelése utáni ízkomponensek változásának mérése elektronikus nyelvvel és illékony komponensek vizsgálata elektronikus orr segítségével



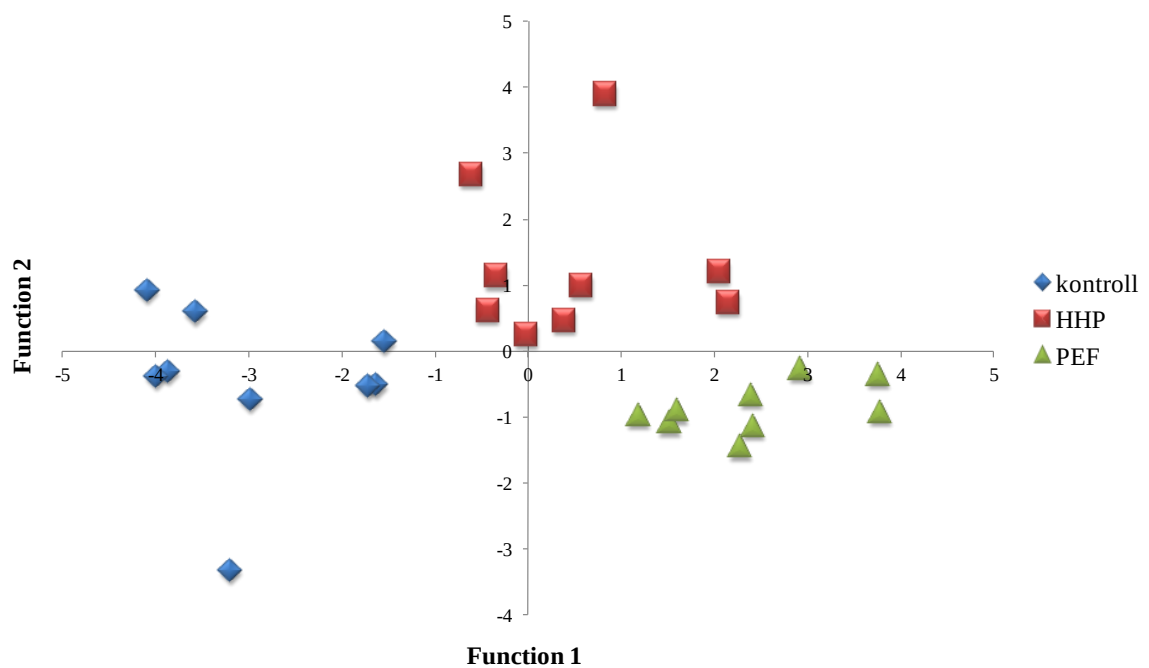
31. ábra Narancslé mintákra vonatkozó CDA score plot elektronikus orr jelválaszai alapján



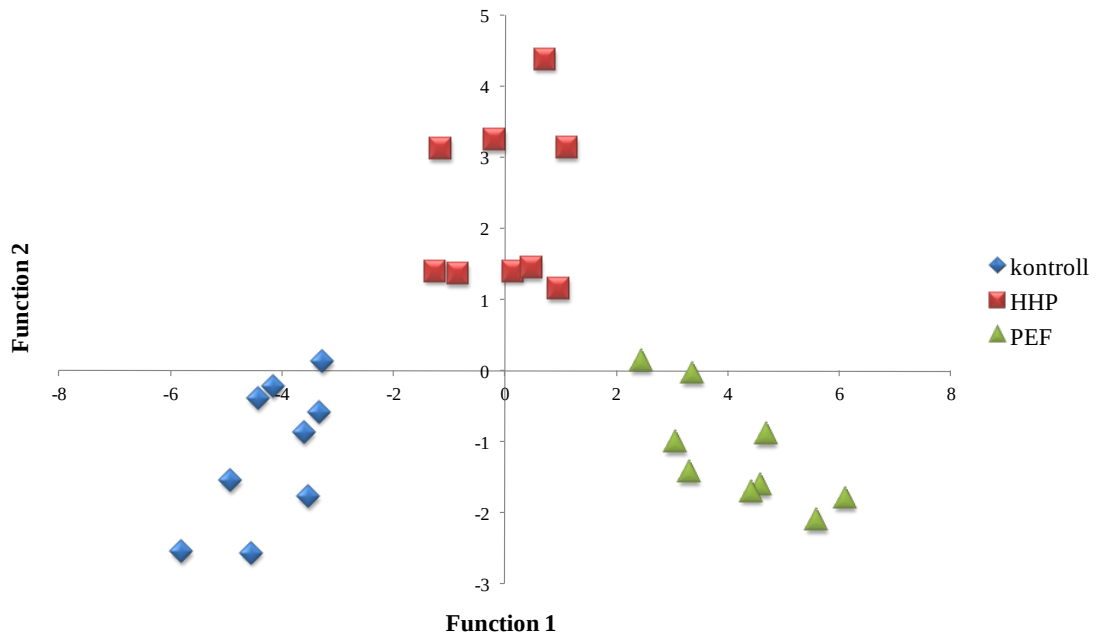
32. ábra Narancslé mintákra vonatkozó CDA score plot elektronikus nyelv jelválaszai alapján



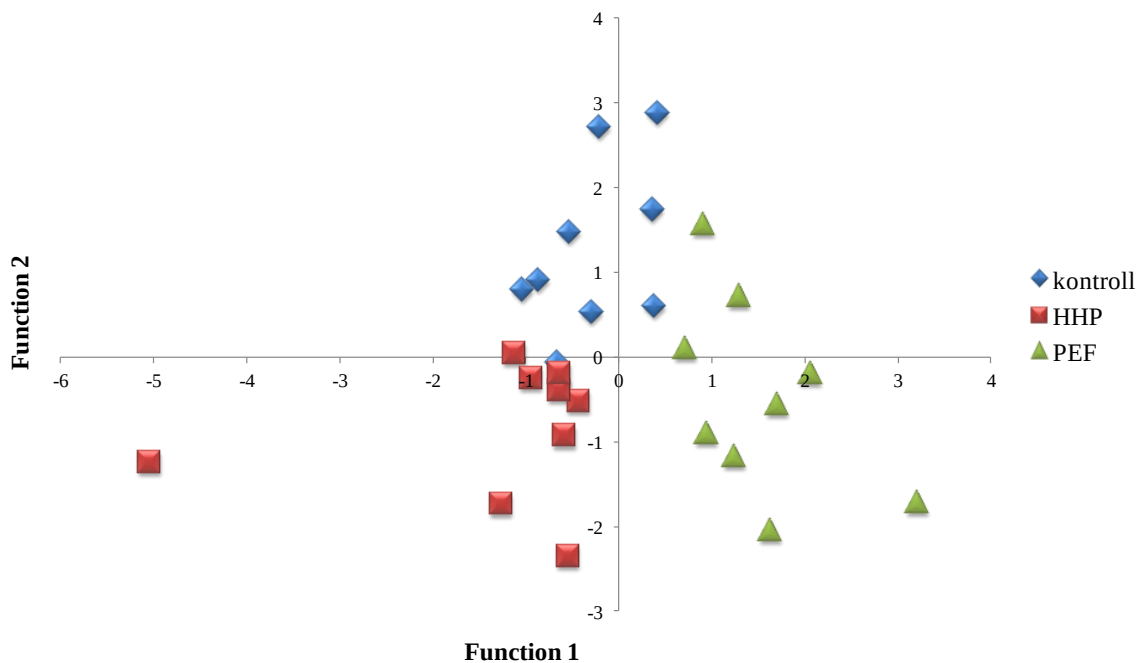
33. ábra Grépfrútlé mintákra vonatkozó CDA score plot elektronikus orr jelvélaszai alapján



34. ábra Grépfrútlé mintákra vonatkozó CDA score plot elektronikus nyelv jelvélaszai alapján



35. ábra Mandarinlé mintákra vonatkozó CDA score plot elektronikus orr jelválaszai alapján



36. ábra Mandarinlé mintákra vonatkozó CDA score plot elektronikus nyelv jelválaszai alapján

A narancs, grépfrút és mandarinlé elektronikus orr jelválaszai (31., 33., 35. ábra) alapján készült kanonikus diszkriminancia analízis eredményei az első és második diszkrimináns irány vetítési síkjára készültek. Megfigyelhető, hogy a PEF és HHP csoportok elkülönülnek

egymástól mindegyik esetben, nemcsak egymástól, hanem a kontroll, kezeletlen mintától is. Ez azt jelenti, hogy az elektronikus orr tehát képes volt elkülöníteni a vizsgált mintákat. A grépfrút-, illetve mandarinlével összehasonlítva, ez az eredmény a narancslé esetében a leginkább szignifikáns. Az elektronikus nyelv esetében (32., 34., 36. ábra) is hasonlóképpen alakultak az eredmények, amely szintén képes volt a minták megkülönböztetésére. Az orrhoz hasonlóan a nyelv esetében is a narancslé volt a legnagyobb biztonsággal elválasztható. Ezek az eredmények mindinkább bizonyították, hogy a „novel” technológiák alkalmazása során esetlegesen bekövetkező érzékszervi, illetve illékony aroma komponensek változásait ezek a berendezések képesek nyomonkövetni, illetve a hatásuk alapján a technológiákat megkülönböztetni. A továbbiakban ezek a műszerek tehát arra is alkalmasak lehetnek, hogy egy ismeretlen lé származását beazonosítsák.

7. táblázat CDA keresztvalidáció tévesztési mátrixa

		Becsült csoporttagság								
		narancs			grépfrút			mandarin		
		kontroll	HHP	PEF	kontroll	HHP	PEF	kontroll	HHP	PEF
e-orr	kontroll	66,7	0	33,3	55,6	22,2	22,2	55,6	44,4	0
	HHP	0	88,9	11,1	22,2	33,3	44,4	22,2	33,3	44,4
	PEF	0	0	100	22,2	11,1	66,7	0	22,2	77,8
e-nyelv	kontroll	66,7	11,1	22,2	77,8	11,1	11,1	88,9	11,1	0
	HHP	0	100	0	0	77,8	22,2	22,2	77,8	0
	PEF	33,3	11,1	55,6	0	0	100	33,3	0	66,7

A 7. táblázat a CDA keresztvalidáció tévesztési mátrixának eredményeit mutatja be, amelyek a három gyümölcsle és különböző kezelési típusok elektronikus orr-és nyelv méréseiből származnak. A 7. táblázatban a releváns adatokat tüntettem fel, amely összegzi a keresztvalidált elektronikus orr és elektronikus nyelv modellek alapján végzett csoportba sorolások eredményeit. A szürke mezőkben lévő számok mutatják a helyes csoportba sorolt minták százalékos arányát, míg a fehér mezőkben lévő adatok a téves csoportba sorolás arányát szemléltetik. Megfigyelhető, hogy az elektronikus orr vizsgálatoknál a PEF kezelt mintákat sikerült legnagyobb arányban a helyes csoportba sorolni (narancs 100%, grapefruit 66,7% és mandarin 77,8%). A HHP-kezelt minták csoportbasorolása az elektronikus orr modell alapján változó sikerrel történt. Látható, hogy leginkább a narancsnál volt megkülönböztethető a HHP-kezelt minta a többitől, ekkor a minták 88,9%-t azonosította a modell helyesen. Ugyanakkor a HHP-kezelt grépfrút és mandarin mintáknak csak 33,3%-a került helyesen besorolásra. Az is megfigyelhető, hogy mindhárom gyümölcsnél az elektronikus orr modellek nagyobb arányban tévesztették össze a HHP-kezelt mintákat a PEF-kezelt mintákkal, mint a kontroll mintákkal.

Hasonló tendencia a kontroll minták felcserélésére nem volt jellemző, mivel, narancslé esetében a kontroll minta a PEF-kezelttel, illetve mandarinlé esetében a kontroll a HHP kezelttel került összetévesztésre nagyobb arányban, továbbá a grépfrút lé esetében mindegyik csoportban ugyanolyan arányú összetévesztés volt.

Mindenesetre az látható, hogy a kontroll mintáknak csak közel a felét sikerült a helyes csoportba sorolni (narancs 66,7%, grapefruit és mandarin 55,6%), tehát az általam alkalmazott kezelések szintjei nem okoztak drasztikus változást a kezelt minták illékony komponenseiben.

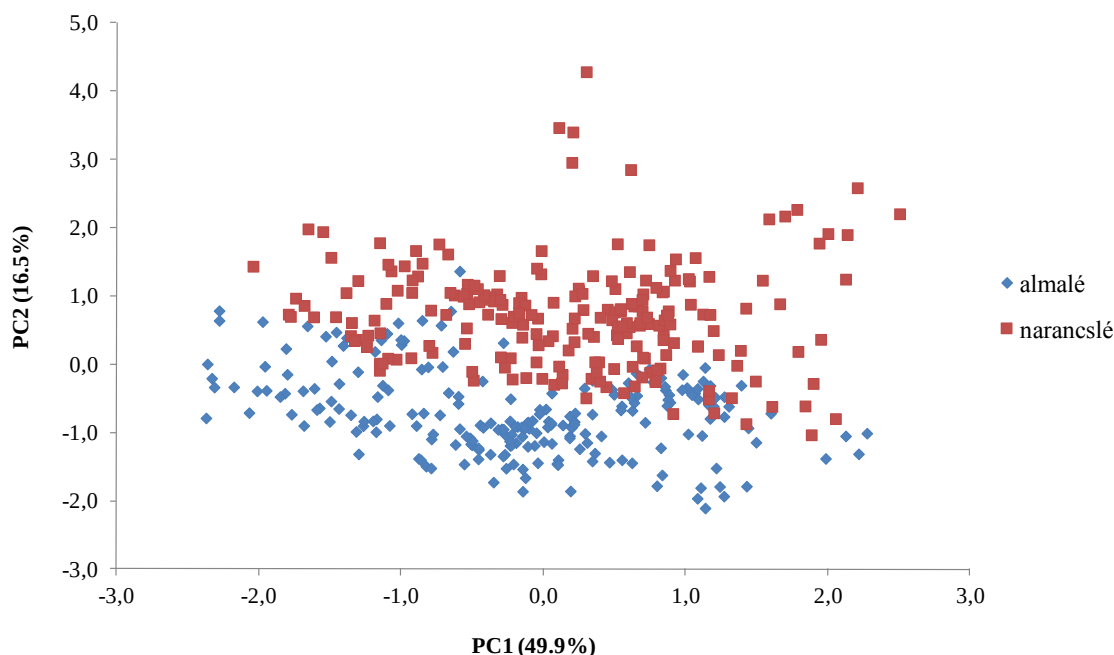
Az elektronikus nyelv modellek csoportbasorolási hatékonyságát vizsgálva általánosságban megállapítható, hogy szinte valamennyi esetben nagyobb arányú volt a helyes csoportbasorolás, mint az elektronikus orr vizsgálatoknál. Tehát az elektronikus nyelv hatékonyabbnak tűnik az általam alkalmazott kezelési szintekkel kezelt minták megkülönböztetésében, mint az elektronikus orr. Megvizsgálva a tévesztések jellegét elmondható, hogy míg a modellek a PEF-kezelt mintákat inkább keverték össze a kontroll mintákkal, mint a HHP-kezelt mintákkal, addig a kontroll és a HHP-kezelt minták tévesztéseiben nem fedezhető fel trend.

Megállapítható tehát, hogy mind az elektronikus orr, mind az elektronikus nyelv alkalmas az új technológiákkal kezelt (PEF, HHP) gyümölcslevek megkülönböztetésére. Ahogy az a CDA keresztvalidáció tévesztési mátrixának adatai alapján látható, a kontroll minták csak közel felét sikerült a helyes csoportba sorolni, ami arra enged következtetni, hogy az alkalmazott kezelések szintjei nem okoztak drasztikus változást a kezelt minták illékony komponenseiben.

4.5.2. *Alicyclobacillus acidoterrestris* mikroorganizmussal beoltott alma- és narancslé PEF-és HHP kezelése utáni elektronikus orr vizsgálatok

A korábbi kutatási eredményeimet alapul véve (HARTYÁNI et al. 2011) az *Alicyclobacillus acidoterrestris* mikroorganizmussal beoltott levek esetében a két műszer közül, az elektronikus orrt alkalmaztam, mivel az említett mikroorganizmus szaporodásának következtében mellékilletok fedezhetők fel a gyümölcslemben, így az illékony komponensek vizsgálata kézenfekvő volt.

4.5.2.1. Az *Alicyclobacillus acidoterrestris* mikroorganizmussal beoltott HHP kezelt alma- és narancslé elektronikus orr mérései.



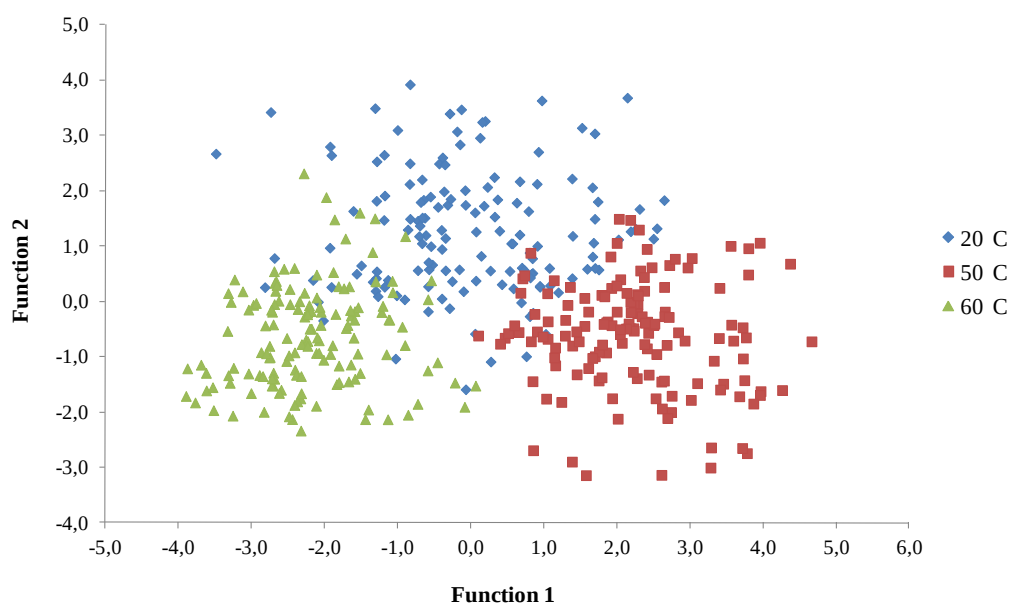
37. ábra HHP kezelt gyümölcslevek elektronikus orr szenzor-jelválaszainak értékelése PCA módszerrel, a gyümölcslé típusa alapján történő színezéssel

A 37. ábrán az elektronikus orr jelválaszainak PCA diagramját láthatjuk, amikor a gyümölcslévet választottam az elválasztás alapjául. Megfigyelhető, hogy az összes adattal elvégzett elemzés során a vizsgált két csoport egymástól sikeresen, kis átfedéssel volt elkülöníthető. Azonban ezzel a matematikai-statisztikai módszerrel nem sikerült megkülönböztetni egymástól a különböző kezelési hőmérsékletű, a különböző nyomásszinten kezelt vagy különböző tárolási idejű mintákat. Így erre a feladatra a felügyelt (supervised) lineáris diszkriminancia analízis (LDA) módszert választottuk. A módszer - a felügyelt jellegéből adódóan - igényli, hogy előzetesen megadjuk számára, hogy 1-1 mérési pont mely csoportba tartozik, s oly módon próbál meg modellt alkotni, hogy ezek a csoportok matematikai függvények segítségével minél jobban elválaszthatók legyenek egymástól. Matematikailag ezt úgy végzi, hogy olyan irányokat keres az eredeti változók által kialakított többváltozós térben, melyek maximálják a csoportok közötti varianciát, miközben minimalizálják a csoporton belüli variancia értékét. Mivel 1-1 mérési pont előzetes csoportbasorolása önkényes, így többfajta szempont szerint csoportosítva az egyes méréseket, egymást követő elemzések során megállapítható, hogy mely csoportosítási szempontnak (esetemben a kezelési hőmérsékletnek, a kezelés szintjének és a tárolási

időnek) van a legnagyobb hatása a gyümölcslevek illékony komponenseinek elektronikus orral mérhető tulajdonságaira.

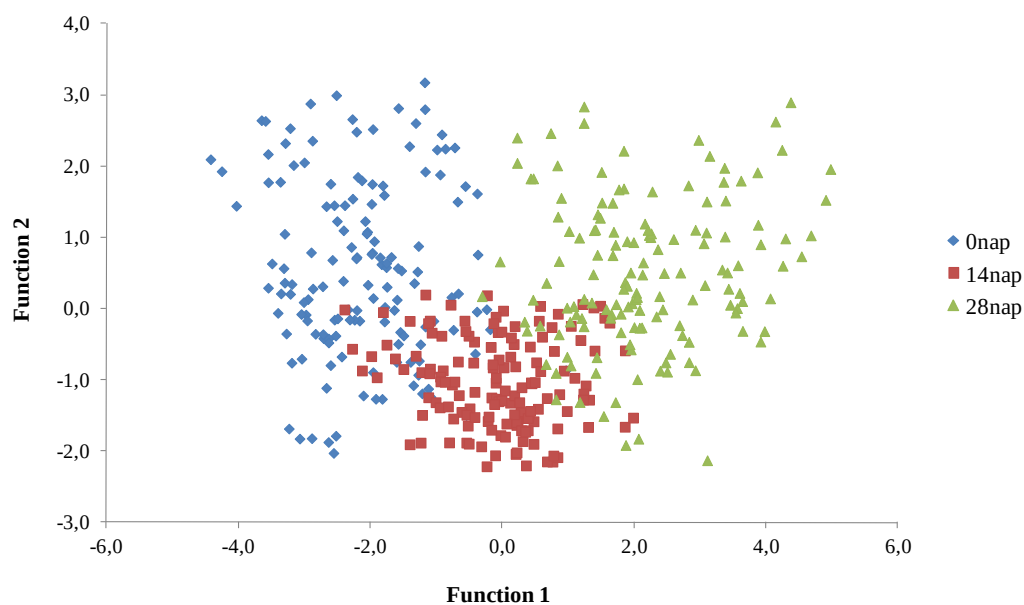
Az LDA sajátértékeit is meghatároztam, így több információt kaphatunk a faktorok kapcsolatára vonatkozólag az elektronikus orr analízisben. A sajátérték definíciója szerint a csoportok közötti szórás és a csoportokon belüli szórás hányadosa. A nagy sajátérték erős szétválasztó hatást jelent. Sokváltozós statisztikai analízist alkalmaztam SPSS (ver.11.0.1) program segítségével.

A kezelési hőmérsékletet figyelembe véve (38. ábra) megállapítottam, hogy azok a minták, amelyeket különböző hőmérsékleteken (20, 50, 60°C) kezeltem, bizonyos átfedéssel elkülöníthetők voltak egymástól, függetlenül a többi tényezőtől, mint a gyümölcslé típusa, alkalmazott nyomásszint, illetve a tárolási idő.



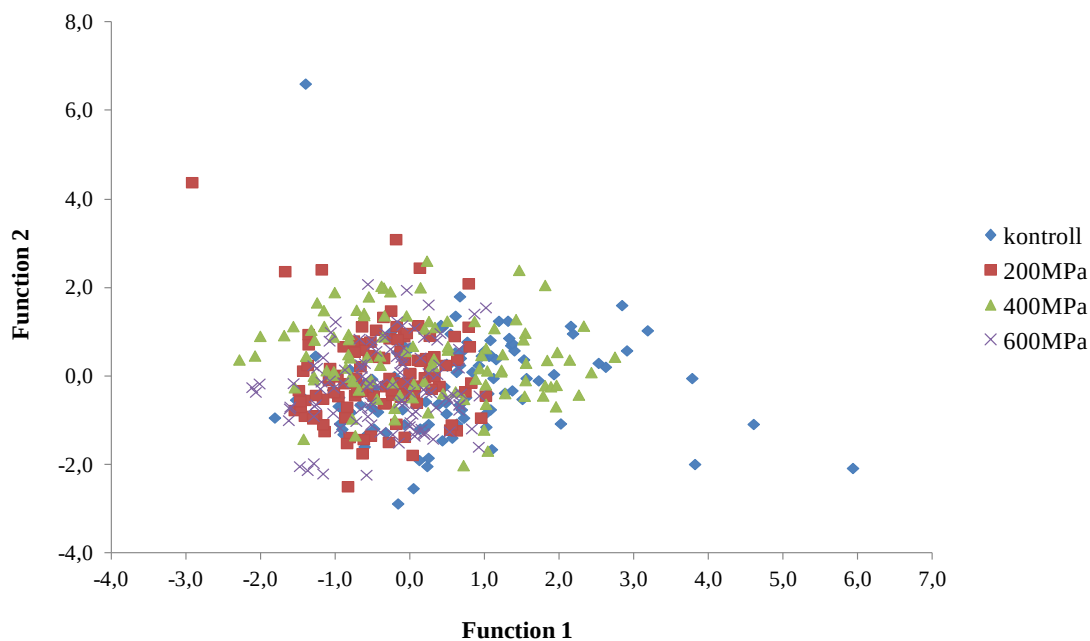
38. ábra HHP kezelt gyümölcslevek elektronikus orr szenzor-jelválaszainak értékelése CDA módszerrel az adatok kezelési hőmérséklet szerinti csoportosítása esetén

Amennyiben a tárolási időt állítjuk a vizsgálat középpontjába (39. ábra), az elektronikus orr el tudta különíteni a három csoportot egymástól úgy, hogy nem volt jelentősége annak, hogy milyen tényezők játszottak szerepet a kezelés során.



39. ábra HHP kezelt gyümölcslevek elektronikus orr szenzor-jelválaszainak értékelése CDA módszerrel az adatok tárolási idő szerinti csoportosítása esetén

A 40. ábrán látható, amely az almale és a narancslé adatait is tartalmazza, hogy szignifikáns különbségeket nem fedezhettem fel, amikor a szétválasztás a különböző nyomásszintek vizsgálatára alapult.



40. ábra HHP kezelt gyümölcslevek elektronikus orr szenzor-jelválaszainak értékelése CDA módszerrel az adatok különböző nyomásszintek szerinti csoportosítása esetén

A gyümölcslevek szétválasztását alapul vevő PCA diagramot (37. ábra), a kezelési hőmérsékleten alapuló-, a tárolási időn alapuló- és a különböző nyomásszinteken alapuló mintacsoportok CDA diagramját (38., 39., 40. ábra) megerősítettem a teljes keresztvalidáció és az első diszkrimináns funkció sajátértékének elemzésével, vizsgálatával. Ezeket az eredményeket a 8. táblázatban tüntettem fel, amely alapján a két statisztikai kimeneti érték a következő sorrendben állítható fel: a leginkább meghatározó tényező a gyümölcslé fajtája, ezt követi a kezelési hőmérséklet, majd a tárolási idő, illetve a kezelés során alkalmazott nyomásszint.

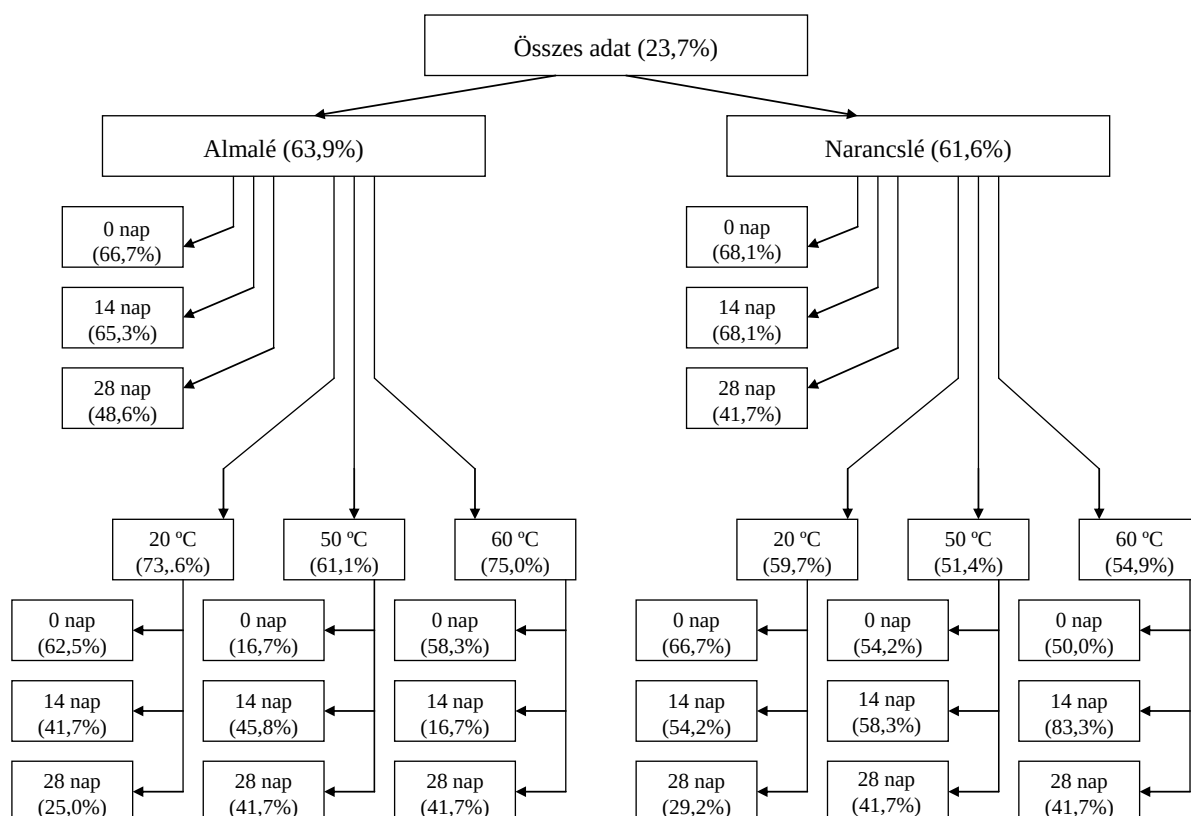
8.táblázat A lineáris diszkriminancia analízis kimeneti értékei az elektronikus orr különböző adatait az elválasztás alapjául véve.

Szétválasztás alapja	A keresztvalidáció során a helyes csoportbasorolás százalékos aránya	Sajátérték
gyümölcslé típus	100,00	19,62
hőmérséklet	84,70	3,26
tárolási idő	82,20	3,08
nyomás	27,30	0,16

Az elektronikus orr jelválaszai alapján végzett lineáris diszkriminancia analízis kimeneti értékeinél az elválasztás alapjául különböző tényezőket választva, mindez számszerűsítve azt jelenti, hogy például amennyiben a gyümölcslé típusát veszem az elválasztás alapjául, ahol is az első diszkrimináns irány értéke (first discriminant function) 19,62; a táblázat szerint ez azt jelenti, hogy a szórás 19,62-szer nagyobb a csoportok között, mint a csoportokon belül.

Tehát, míg a gyümölcslé-típusok átfedés mentesen szétválaszthatók egymástól, addig a különböző nyomásszinteken kezelt minták nem. Ezt mutatja a keresztvalidáció során meghatározott szétválasztás jósága is. Látható, hogy gyümölcslé típusokat 100%-os hatékonysággal tudtam megkülönböztetni az elektronikus orral, s a kezelési hőmérséklet valamint a tárolási idő alapján is az esetek több mint 80%-ában helyes csoportba sorolás történt. Ugyanakkor a kezelési nyomásszint alapján (200, 400 és 600 MPa) a 4 csoport mintáinak alig több mint egynegyedét sikerült megfelelő csoportba sorolni. Felmerül a kérdés, hogy a különböző nyomáskezelési szintű minták, megkülönböztethetők volnának-e, ha nem vennénk egy csoportba mindkét gyümölcslé mintáit vagy a különböző kezelési hőmérsékletű mintákat. Ezért elvégeztem a csoportok szétválasztását az összes lehetséges csoportosítási szinten. Az eredményeket a 41. ábrán tüntettem fel. A megjelölt

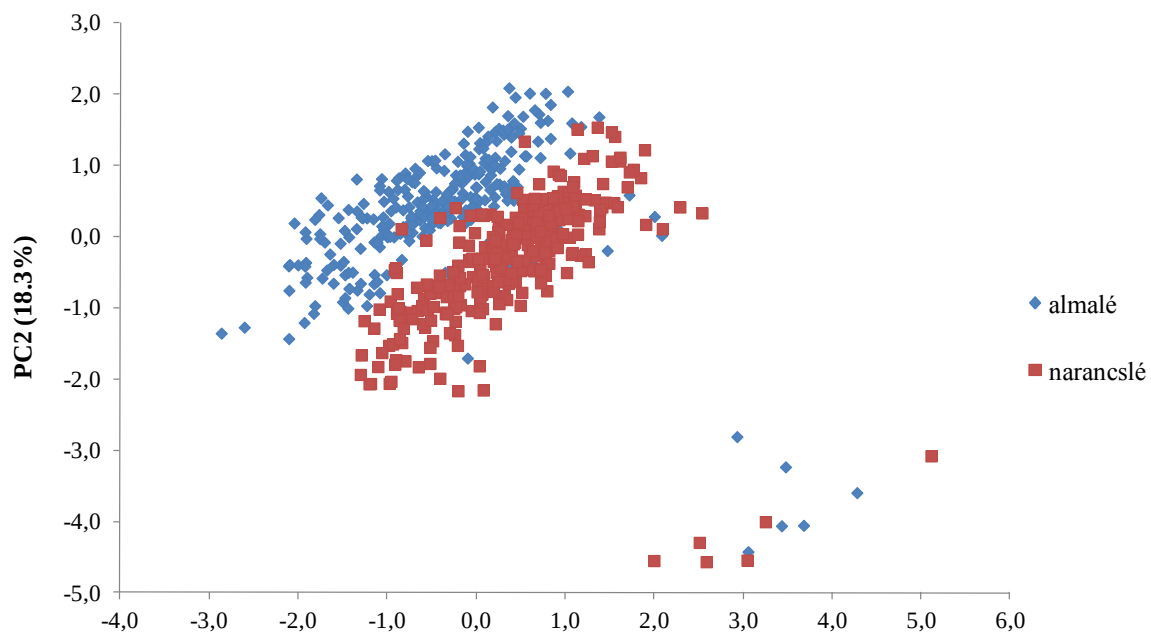
százalékértékek a keresztvalidáció során a csoportbasorolás jóságát mutatják. A 41. ábra is bizonyítja, hogy bármilyen szintig is bontom vissza a modellt, nem találhatok olyan szintet, ahol a nyomáskezelés alapú elválasztás jó lenne, azaz az az elválasztás, ahol a nyomást veszem alapul a vizsgálatokhoz.



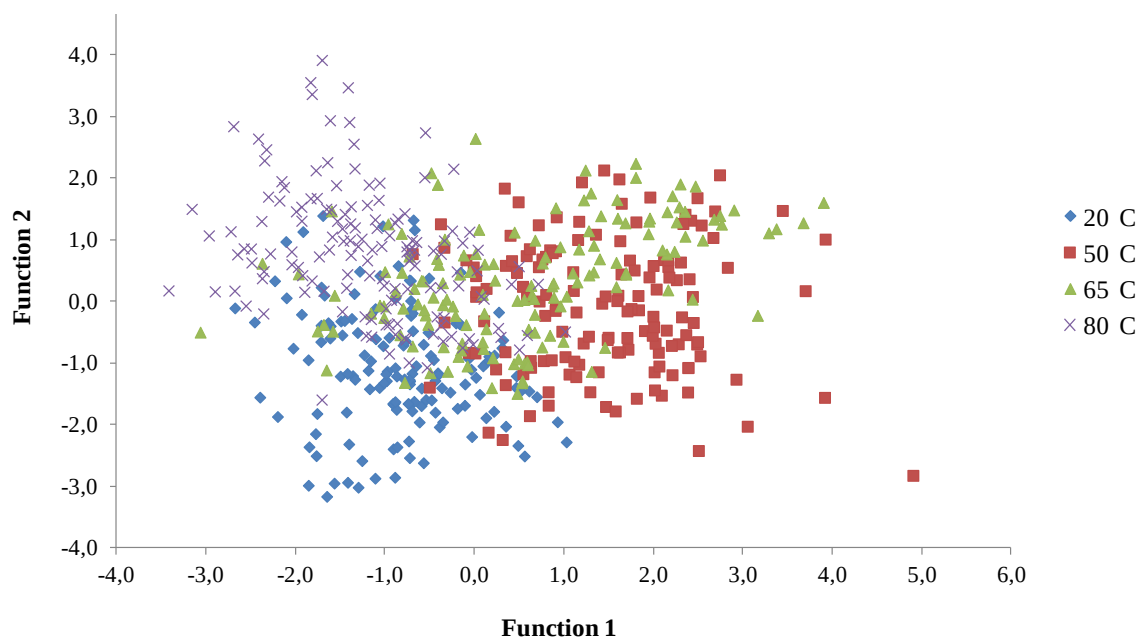
41. ábra A helyesen osztályozott, különböző nyomásszinteken kezelt minták százalékos aránya

4.5.2.2. Az *Alicyclobacillus acidoterrestris* mikroorganizmussal beoltott PEF kezelt alma- és narancslé elektronikus orr mérései.

A beoltott narancs-és almalé PEF kezelése után történő elektronikus orr vizsgálatok alapján a következő állapítható meg. A HHP kezeléshez hasonlóan a két gyümölcslevet az elektronikus orr elkülönítette (42. ábra). A számszerűsített adatok megtalálhatók az M5. számú Mellékletben.



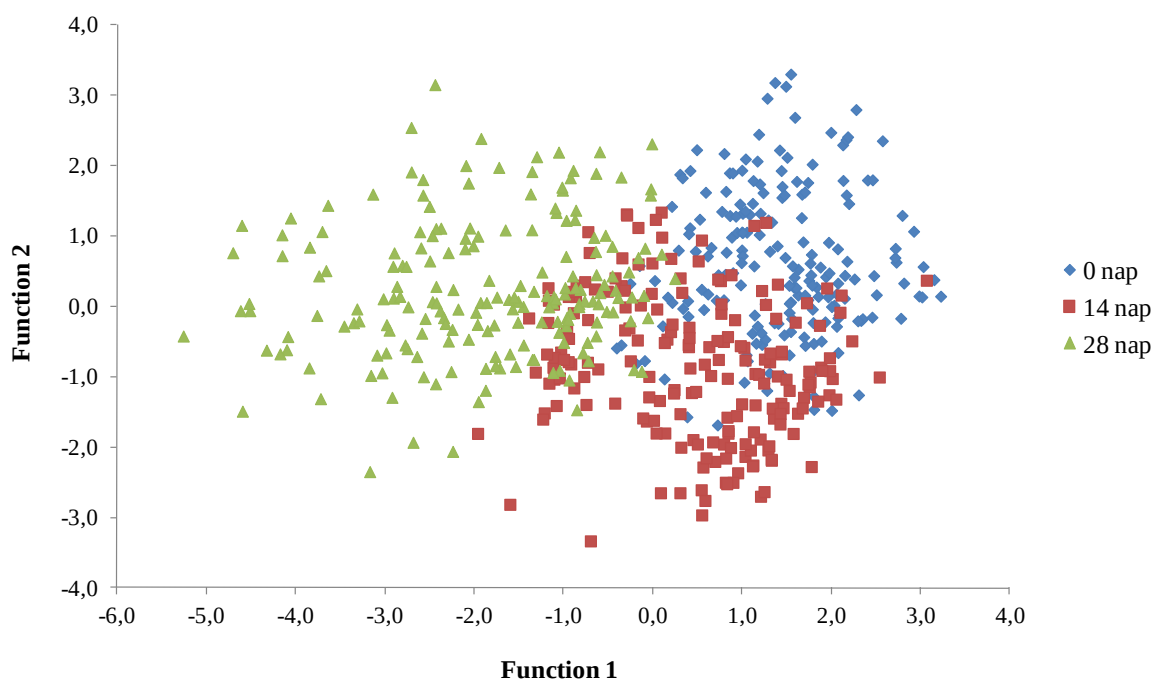
42. ábra PEF kezelt gyümölcslevek elektronikus orr szenzor-jelválaszainak értékelése PCA módszerrel, a gyümölcslé típusa alapján történő színezéssel



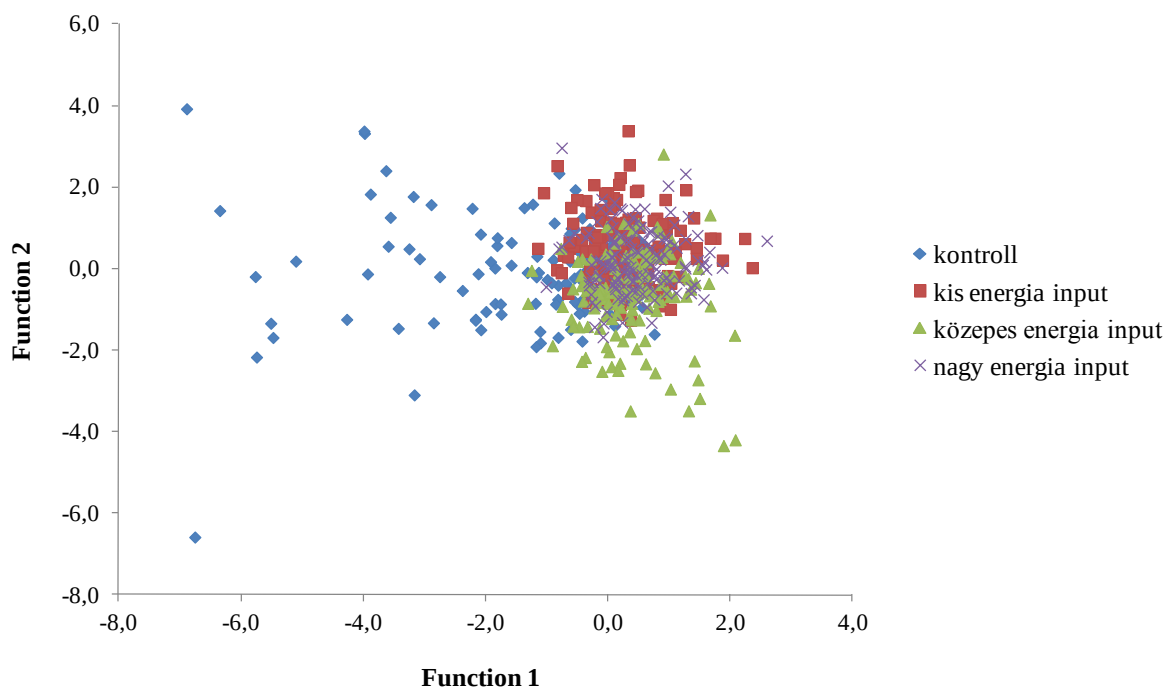
43. ábra PEF kezelt gyümölcslevek elektronikus orr szenzor jelválaszainak értékelése CDA módszerrel az adatok kezelési hőmérséklet szerinti csoportosítása esetén

Ha a kezelési hőmérsékletet (jelen esetben: 20, 50, 60, 80 °C) veszem a szétválasztás alapjául, ott is megfigyelhető, hogy a 20, 50- és 80 °C- on végzett kezelések elkülönülnek egymástól, azonban a 60 °C hőmérséklet alkalmazása esetén átfedés látható. A számszerűsített adatok megtalálhatók az M6. számú mellékletben.

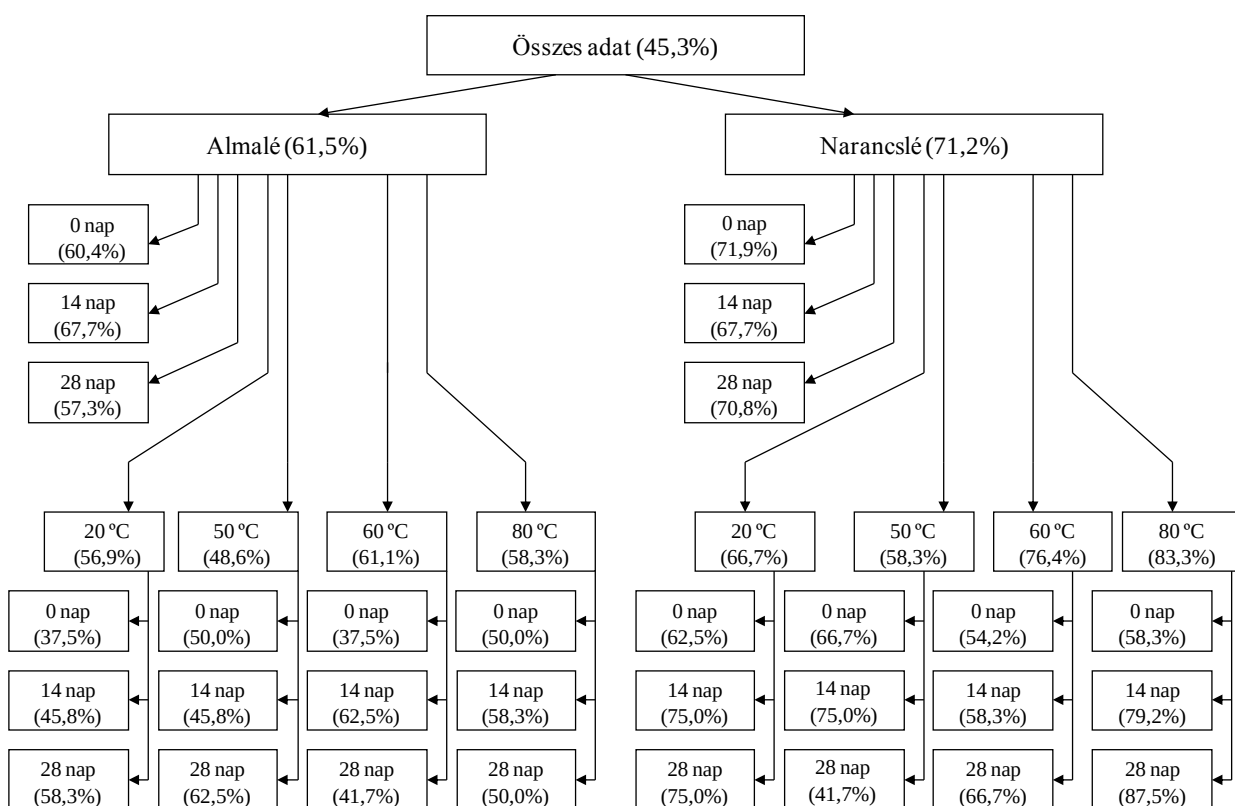
A tárolási idő alapján történő elválasztás (44. ábra) során megállapítható, hogy az elektronikus orr sikeresen elkülönítette egymástól a 0, 14, illetve 28 napig tárolt mintákat bizonyos átfedéssel, míg a PEF kezelés során alkalmazott energia inputot (45. ábra), mint jellemző kezelési paramétert alapul véve, az orr nem tudta élesen megkülönböztetni a különböző nyomás kezelési szinteket, hasonlóan a nagynyomású kezeléseknél tapasztaltakkal.



44. ábra PEF kezelt gyümölcslevek elektronikus orr szenzor-jelválaszainak értékelése CDA módszerrel az adatok tárolási idő szerinti csoportosítása esetén



45. ábra PEF kezelt gyümölcslevek elektronikus orr szenzor-jelválaszainak értékelése CDA módszerrel az adatok különböző energiainput szerinti csoportosítása esetén



46. ábra A helyesen osztályozott, különböző energiaszinteken PEF kezelt minták százalékos aránya

A HHP kezelt mintákhoz hasonlóan (41. ábra) a PEF kezelt gyümölcslevekre is felmerült az a kérdés, hogy a különböző energiainputokkal kezelt minták, megkülönböztethetők volnának-e, ha nem vennénk egy csoportba mindkét gyümölcslé mintáit vagy a különböző kezelési hőmérsékletű mintákat. Így ahogy azt a 46. ábra is bemutatja, a PEF mintákra vonatkoztatva is elvégeztem a csoportok szétválasztását az összes lehetséges csoportosítási szinten, ahol hasonlóképpen a 41. ábrához a megjelölt százaléértékek a keresztvalidáció során a csoportbasorolás jóságát mutatják. A PEF adatokra vonatkozó diagram pedig szintén megmutatta, hogy bármilyen szintig is bontom vissza a modellt, nem találhatok olyan szintet, ahol a térerősség alapú elválasztás jó lenne, ahol az energiainputot veszem alapul a vizsgálatokhoz.

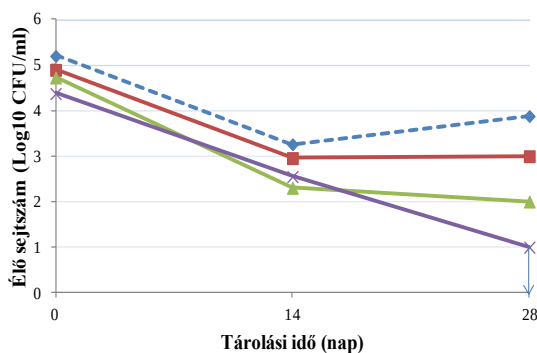
A beoltott alma és narancslé vizsgálataihoz elektronikus orrt alkalmaztam a kémiai érzékelősorok közül. Az előzőekben megállapítottam, hogy e berendezések alkalmasak egyes technológiával kezelt minták elkülönítésére. Jelen fejezetben taglaltak szerint arra is választ kaptam, hogy vajon egyes technológiákat kiemelve, ha különböző paraméterekkel (nyomás, térerő) végzem a méréseket, szintén elkülöníthetem-e az így kezelt mintákat. Az elektronikus orr jelválaszai alapján végzett lineáris diszkriminancia analízis kimeneti értékeit figyelembe véve a szétválasztásnál a HHP kezelt minták esetében legmeghatározóbb tényező a gyümölcslé típusa volt, majd a kezelési hőmérséklet, tárolási idő, végül pedig az alkalmazott nyomás. A PEF kezelt leveknél is ugyanez a sorrend volt a tendencia, utolsóként az energia input értékekkel.

4.6. Gyümölcslevek mikrobiológiai eredményei

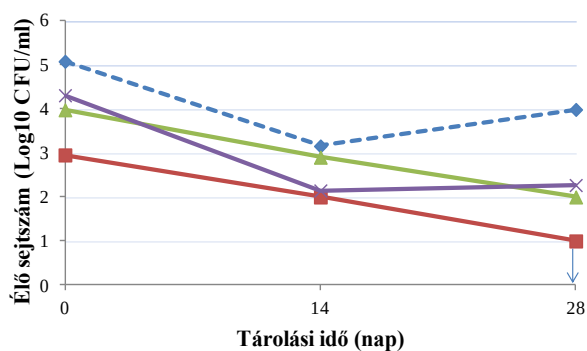
A következő ábrákon (47.-49.ábra) megfigyelhetők az alma- és narancslébe beoltott *Alicyclobacillus acidoterrestris* spórák és vegetatív sejtek túlélési arányának változása látható különböző kezelési hőmérsékleteken végzett HHP kezeléseket (200, 400, 600 MPa) követően. A diagramokban a mikrobaszámban történő változásokat a tárolási idő (0, 14, 28 nap) függvényében is vizsgáltam.

A kontroll mintákat az ábrákon szaggatott vonallal jelöltem és a megnevezés szerint 0 MPa nyomásszintnek felel meg. Mindegyik diagram esetében a nyomásszintek jelölését különböző szimbólumjelekkel és színekkel mutatom be.

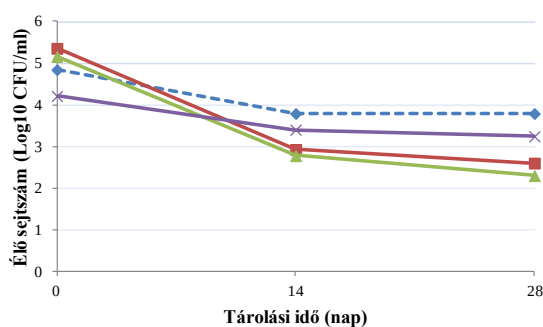
4.6.1. *Alicyclobacillus acidoterrestris* mikroorganizmussal beoltott gyümölcslevek HHP kezelését követően elért inaktiváció



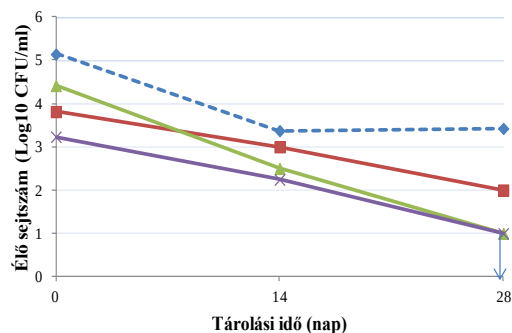
A., *A. acidoterrestris* spórák almalében



B., *A. acidoterrestris* vegetatív sejtek almalében



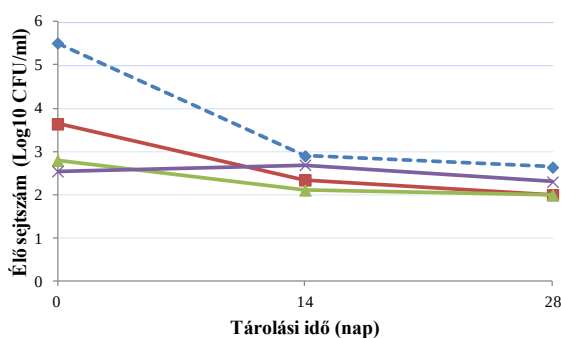
C., *A. acidoterrestris* spórák narancslében



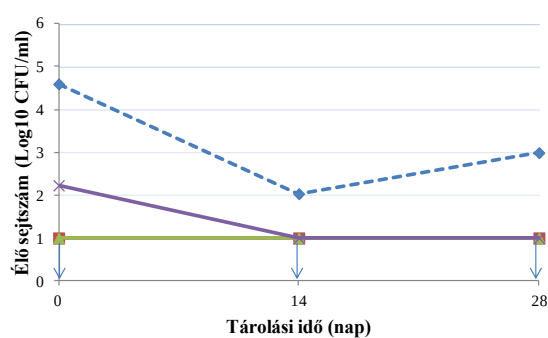
D., *A. acidoterrestris* vegetatív sejtek narancslében

47. ábra/A,B,C,D. 20 °C kezelési hőmérsékleten az *Alicyclobacillus acidoterrestris* (DSMZ 2498) spórák és vegetatív sejtek száma különböző nyomásszintek esetében a kontroll mintához viszonyítva, a tárolási idő függvényében alma és narancslé vizsgálatában (♦ - 0 MPa, ■ - 200 MPa, ▲ - 400 MPa, x- 600 MPa nyomásszint)

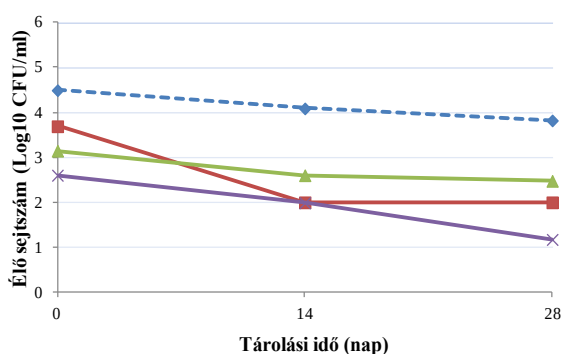
A fenti ábrák alapján (47/A,B,C,D ábra) megállapítottam, hogy a spórák és vegetatív sejtek túlélési aránya radikálisan nem csökkent szobahőmérsékleten elvégzett nagy hidrosztatikai nyomású kezelés után, habár ez a tendencia a tárolási idő előrehaladtával változott. Almalében lévő spórák esetében a 600 MPa alkalmazásával 1 log csökkenés volt elérhető, azonban ez a 28. tárolási napra a kimutathatósági határ alá csökkent. Ez abból is adódhat, hogy az *Alicyclobacillus acidoterrestris* optimális szaporodási hőmérséklete 40-48 °C hőmérséklet között van, így a 4 °C hőmérsékletű hűtve tárolás nem kedvez ennek a feltételnek.



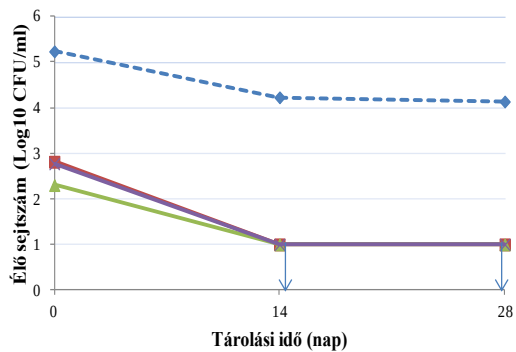
A., *A. acidoterrestris* spórák almalében



B., *A. acidoterrestris* vegetatív sejtek almalében



C., *A. acidoterrestris* spórák narancslében

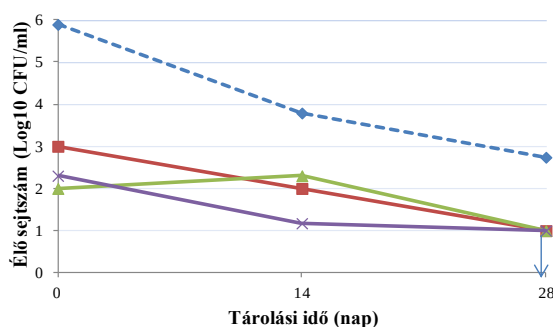


D., *A. acidoterrestris* vegetatív sejtek narancslében

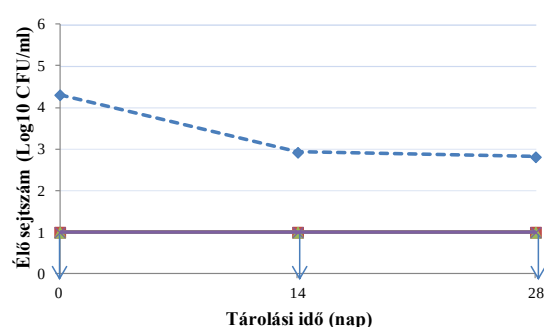
48. ábra/A,B,C,D 50 °C kezelési hőmérsékleten az *Alicyclobacillus acidoterrestris* (DSMZ 2498) spórák és vegetatív sejtek túlélési aránya különböző nyomásszintek esetében a kontroll mintához viszonyítva a három tárolási idő függvényében alma és narancslé vizsgálatában (♦ - 0 MPa, ■ - 200 MPa, ▲ - 400 MPa, x- 600 MPa nyomásszint)

Az 50 °C hőmérsékleten történő kezelés esetén az *Alicyclobacillus acidoterrestris* mikroorganizmussal beoltott almalében 2 log spóraszám csökkenést érhettem el 200 MPa nyomás alkalmazásával, míg 3 log csökkenést a 400-, illetve 600 MPa nyomás mellett (48/A). Narancslé esetében (48/C) 600 MPa nyomás alkalmazásával 2 log csökkenést értem el, mely a 28. tárolási napra további 1,8 log nagyságrendű csökkenést ért el.

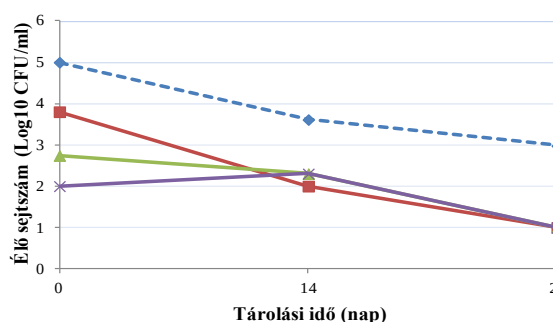
A vegetatív sejtek számának vizsgálatakor megállapítottam, hogy mind alma-és narancslé esetében (48/B,D) a nyomásszint emelésével a túlélőszám a kimutathatósági határ alá süllyedt, tehát beigazolódott az az állítás, amit már korábban szakirodalomban olvasottak is bemutattak, miszerint a 300-700 MPa nyomású HHP kezelés esetén a vegetatív sejtek jóval érzékenyebben reagálnak a kezelésekre (PATTERSON et al. 1995), mint a spórák, amelyek relatív rezisztensen viselkednek (SMELT 1998). Igaz, hogy ebben az esetben az 50 °C kezelési hőmérséklet is szerepet játszik. ALPAS és munkatársai (2003) alma és narancslébe beoltott *Alicyclobacillus acidoterrestris* mikroorganizmus vegetatív sejtjeinek HHP kezeléssel történő inaktivációját mérték. A kutatásaikban megállapították, hogy 350 MPa nyomás 20 percig történő alkalmazásával 50 °C kezelési hőmérsékleten, almalé esetén 4,6 log csökkenés érhető el, így az elért inaktivációban nagy szerepe volt a kezelési hőmérsékletnek. BUZRUL és munkatársai (2005) is erre a megállapításra jutottak. Kutatásukban bemutatták, hogy 50 °C kezelési hőmérsékleten végzett 350 MPa nyomású, 30 perces kezelés mellett körülbelül 6 log csökkenést értek el, azonban amikor csupán 35 °C kezelési hőmérsékletet választottak, ugyanezen inaktivációs szint eléréséhez már 150 percre volt szükség. Mindamellet megállapították, hogy az *Alicyclobacillus acidoterrestris* sejtek hőrezisztenciája és a közeg pH-ja között összefüggésnek is köszönhető ez (MURAKAMI et al. 1998). LINTON (1999) is beszámolt már korábban arról, miszerint a HHP kezeléssel elérhető mikrobiológiai inaktivációt jelentős mértékben meghatározza a pH.



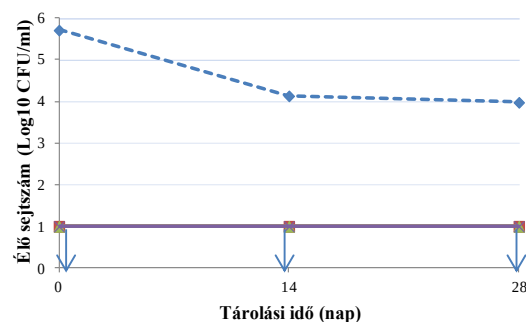
A., *A. acidoterrestris* spórák almalében



B., *A. acidoterrestris* vegetatív sejtek almalében



C., *A. acidoterrestris* spórák narancslében



D., *A. acidoterrestris* vegetatív sejtek narancslében

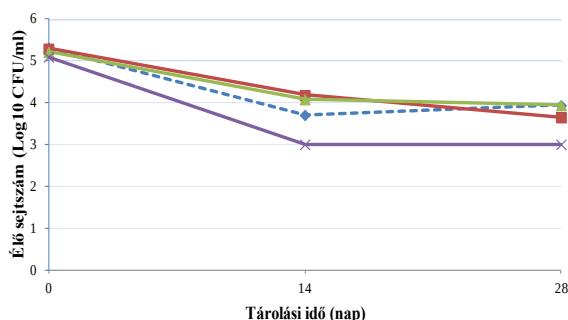
49. ábra/A,B,C,D. 60 °C kezelési hőmérsékleten az *Alicyclobacillus acidoterrestris* (DSMZ 2498) spórák és vegetatív sejtek túlélési aránya különböző nyomásszintek esetében a kontroll mintához viszonyítva a három tárolási idő függvényében alma és narancslé vizsgálatában (♦ - 0 MPa, ■ - 200 MPa, ▲ - 400 MPa, x- 600 MPa nyomásszint)

A 60 °C (49/C. ábra) hőmérséklet esetében a 10 percig tartó 200, 400, 600 MPa nyomású kezelés 1,1, 2,5; illetve 3 log csökkenést okozott a beoltott narancslében lévő spórák számában. Megfigyeltem, hogy bármilyen nyomásszintet is alkalmazok mind almalében, mind narancslében, a 60 °C kezelési hőmérséklet esetén a vegetatív sejtek száma a kimutathatósági szint alá süllyedt. Megállapítható tehát, hogy már ez a 10 °C kezelési hőmérsékletnövekedés is nagyobb mértékű inaktivációt eredményezett összehasonlítva a 48/B., D. ábrával.

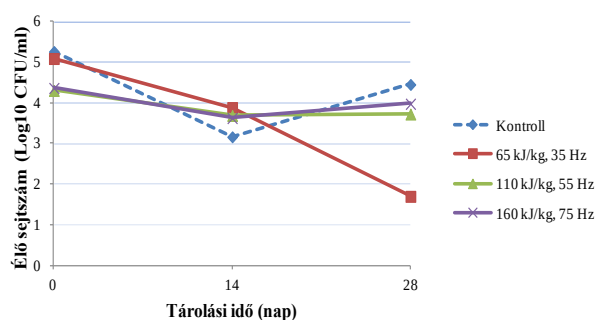
4.6.2 *Alicyclobacillus acidoterrestris* mikroorganizmussal beoltott gyümölcslevek PEF kezelését követően elért inaktiváció

Az 50-53. ábrán a PEF kezelés hatásaként elért inaktivációt mutatom be. Az ábrákon feltüntettem a kezelési szinteket, tekintettel arra, hogy különböző értékek, egyrészt a levek fajtájából, másrészt a különböző hőmérsékletekből adódó vezetőképesség különbség miatt.

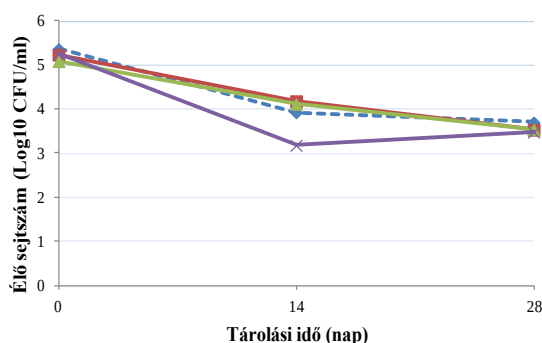
Mindegyik diagram esetében a kezelési szinteket különböző szimbólumjelekkel és színnel jelöltem. A piros szín mindig az alacsony-, a zöld szín a közepeset-, míg a lila szín a nagy energia inputot jelöli, míg a kontroll mintákat szaggatott vonallal jelöltem.



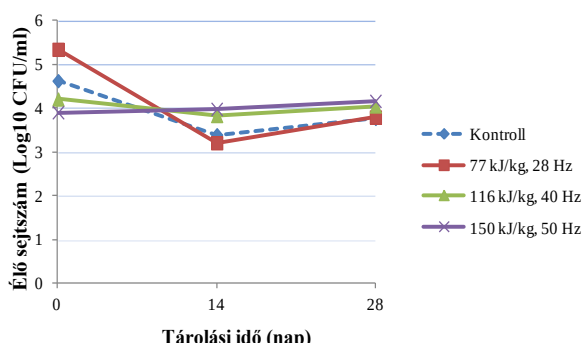
A., *A. acidoterrestris* spórák almalében



B., *A. acidoterrestris* vegetatív sejtek almalében



C., *A. acidoterrestris* spórák narancslében



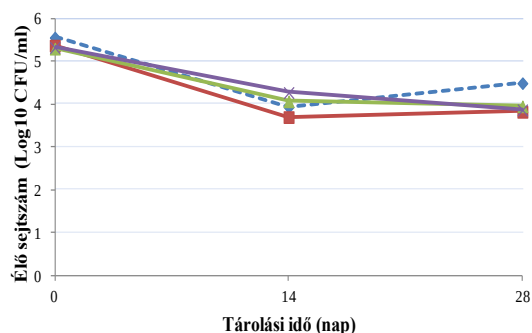
D., *A. acidoterrestris* vegetatív sejtek narancslében

50. ábra/A,B,C,D. 20 °C kezelési hőmérsékleten az *Alicyclobacillus acidoterrestris* (DSMZ 2498) spórák és vegetatív sejtek túlélési aránya különböző PEF kezelési szintek esetében a kontroll mintához viszonyítva a három tárolási idő függvényében alma és narancslé vizsgálatában

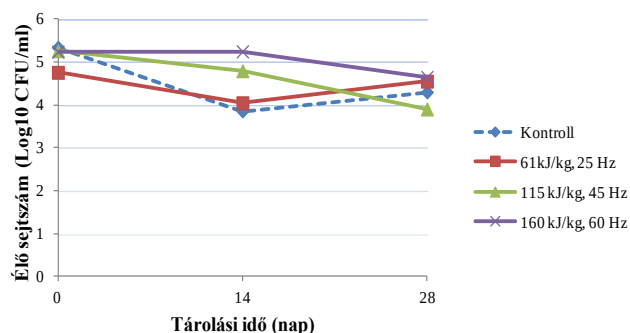
A 20 °C hőmérsékleten végzett PEF kezelés eredménye a spóraszám tekintetében az elvártaknak megfelelően alakult mind a két vizsgált lé esetében. A kezelési szint emelésével inaktiváció nem történt. A 4 °C hőmérsékleten történő tárolás ezt némiképp megváltoztatta, jelentős csökkenés azonban nem volt tapasztalható.

A vegetatív sejteket vizsgálva megállapítottam, hogy csupán 0,5 log csökkenést értem el a legnagyobb energiabefektetés mellett is.

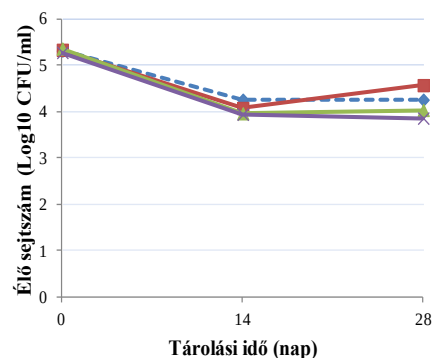
A PEF technika nem alkalmas spórák inaktivációjára. Méréseimmel a célom az is volt, hogy megvizsgáljam, hogy a hő és PEF technika kombinálásával elérhetek-e inaktivációt a spórák számában.



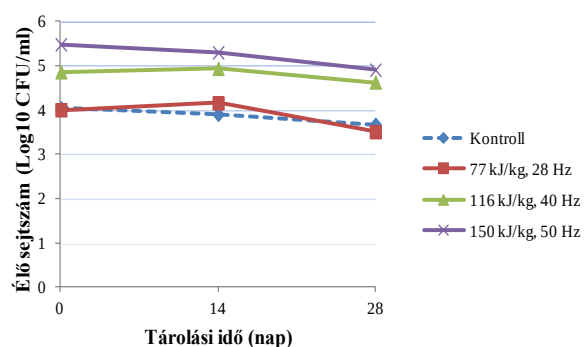
A., *A. acidoterrestris* spórák almalében



B., *A. acidoterrestris* vegetatív sejtek almalében



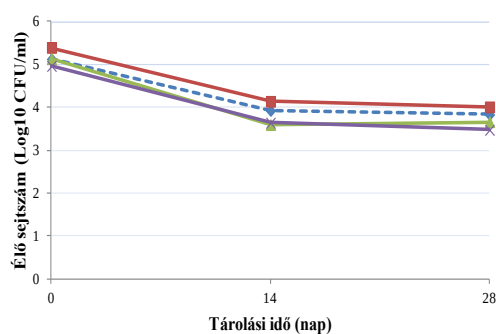
C., *A. acidoterrestris* spórák narancslében



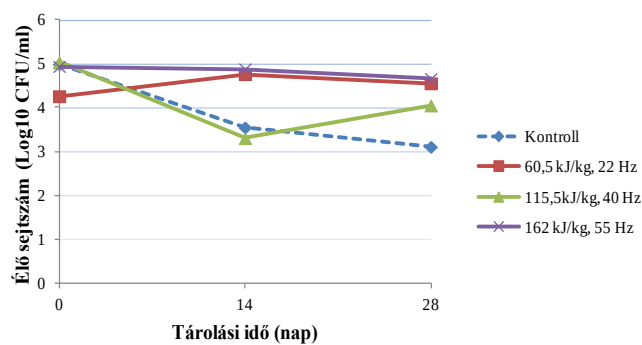
D., *A. acidoterrestris* vegetatív sejtek narancslében

51. ábra/A,B,C,D. 50 °C kezelési hőmérsékleten az *Alicyclobacillus acidoterrestris* (DSMZ 2498) spórák és vegetatív sejtek túlélési aránya különböző PEF kezelési szintek esetében a kontroll mintához viszonyítva a három tárolási idő függvényében alma és narancslé vizsgálatában

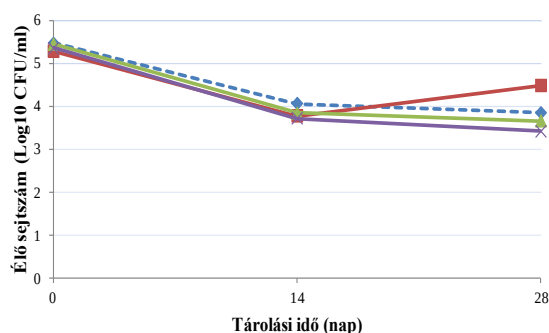
Az 50 °C hőmérséklet sem volt még elegendő ahhoz, hogy ez a kombinált kezelés együttesen okozza a spórák számának változását. Meglepő volt ugyanakkor, hogy a spóra- és vegetatív sejt számában átfedéseket találtam. Érdekes módon a narancslében az 50 °C-os PEF kezelés (51/D ábra) nem csökkentette a vegetatív sejtek számát még kis mértékben sem, aminek oka kérdéses számomra.



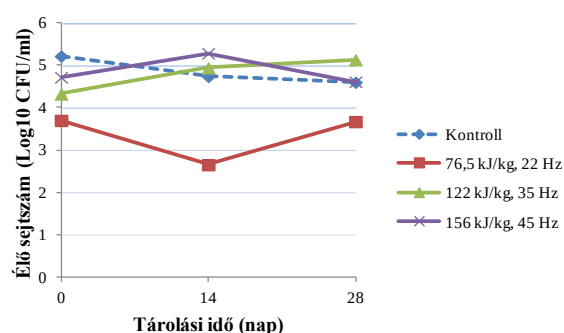
A., *A. acidoterrestris* spórák almalében



B., *A. acidoterrestris* vegetatív sejtek almalében



C., *A. acidoterrestris* spórák narancslében

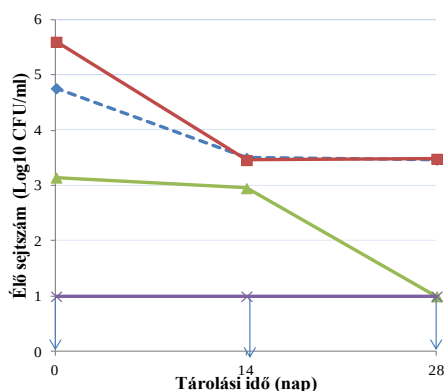


D., *A. acidoterrestris* vegetatív sejtek narancslében

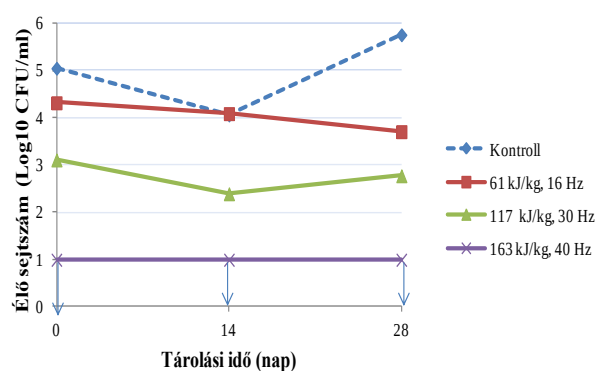
52. ábra/A,B,C,D. 60 °C kezelési hőmérsékleten az *Alicyclobacillus acidoterrestris* (DSMZ 2498) spórák és vegetatív sejtek túlélési aránya különböző PEF kezelési szintek esetében a kontroll mintához viszonyítva a három tárolási idő függvényében alma és narancslé vizsgálatában

A spórák számának változása a 60°C hőmérsékleten történő kezelés esetében sem volt megfigyelhető a kezelési szintek növelésével, a csökkenés inkább a tárolás során adódott amikor 1,2, illetve 1,3 logos csökkenést figyeltem meg almalé esetében.

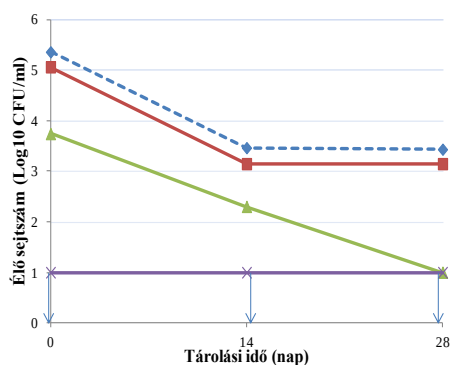
A narancslében lévő vegetatív sejtek inaktivációja még a legmagasabb befektetett energiájú kezelés mellett is csak 0,3 log mértékű volt.



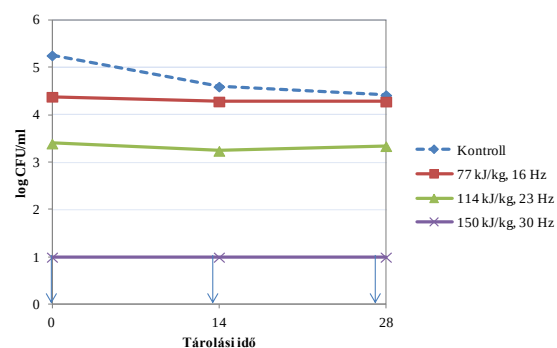
A., *A. acidoterrestris* spórák almalében



B., *A. acidoterrestris* vegetatív sejtek almalében



C., *A. acidoterrestris* spórák narancslében



D., *A. acidoterrestris* vegetatív sejtek narancslében

53. ábra/A,B,C,D. 80 °C kezelési hőmérsékleten az *Alicyclobacillus acidoterrestris* (DSMZ 2498) spórák és vegetatív sejtek túlélési aránya különböző PEF kezelési szintek esetében a kontroll mintához viszonyítva a három tárolási idő függvényében alma és narancslé vizsgálatában

80 °C kezelési hőmérséklet alkalmazása mellett, már észrevehető inaktivációt véltem felfedezni. Nevezetesen a spórák esetében, a kis térerő alkalmazása mind alma (61 kJ/kg) és narancslé (77kJ/kg) vizsgálata során a kontroll mintához képest jelentősen nem csökkentette a spórák számát, azonban a következő közepes kezelési szint (117kJ/kg, illetve 114 kJ/kg) körülbelül 2 log inaktivációt okozott esetükben, míg a legnagyobb befektetett energiaszint mellett a kimutatási határ alá csökkentette számukat. Spóráknál a tárolási idő előrehaladtával a számuk tovább csökkent, amely a PEF kezelt levek hűtve tárolásának kérdésének vizsgálatát erősíti.

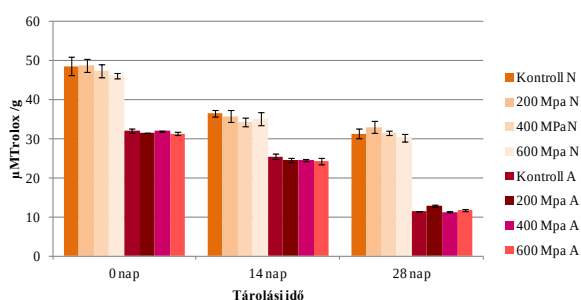
A 80 °C hőmérséklet alkalmazásának hatékonysága már a vegetatív sejtek inaktivációján is megnyilvánul. A kezelési szintek emelésével 0,8-1 log, majd 2 log csökkenést tapasztaltam mindkét lé esetén, végül a legmagasabb (163 kJ/kg, 150 kJ/kg) energiainputu kezelés már a kimutathatósági határ alá csökkentette a vegetatív sejtek számát.

A mikrobiológiai eredmények összegzése során megállapítható, hogy az Alicyclobacillus acidoterrestris (DSMZ 2498) mikroorganizmussal beoltott alma és narancslé minták szobahőmérsékleten (20 °C) végzett HHP kezelését követően sem a spórák, sem a vegetatív sejtek száma nem csökkent jelentősen. Az 50 °C kezelési hőmérséklet mellett a spórák esetében már 200-600 MPa nyomás alkalmazása mellett 2-3 log csökkenést tapasztaltam, míg a vegetatív sejteknél a nyomásszint emelésével azok számát a kimutathatósági határ alá csökkentettem. Egy további 10 °C emelés pedig jelentősebb mértékű inaktivációt eredményezett.

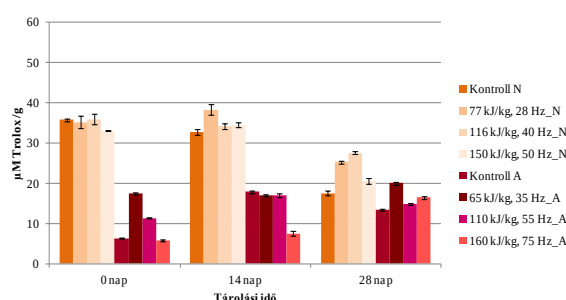
A beoltott levek PEF kezelését követően 20 °C kezelési hőmérséklet mellett, még a kezelési szint emelésével sem történt inaktiváció, de még az 50 °C és 60 °C hőmérsékletre emelés sem volt elegendő, hogy ez a kombinált kezelés együttesen okozza a spóraszám változását. Viszont 80 °C kezelési hőmérséklet alkalmazása mellett már jelentősebb inaktivációt értem el. Az emelkedő erősségű kezelést követve tendenciaszerűen csökkent a spórák és vegetatív sejtek száma.

4.7. Gyökfogó kapacitás és összfenol tartalom vizsgálata

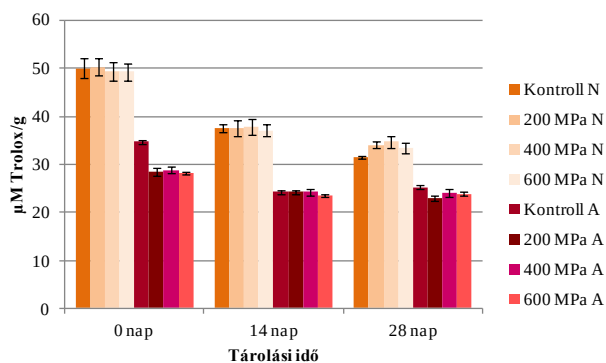
A következő ábraszorozatban a gyökfogó aktivitást mutatom be (54-59., 67. ábra) amelyet $\mu\text{Mol trolox/g}$ nyersanyag mennyiségben fejeztem ki. Mindegyik kezelési hőmérséklet esetén külön diagramokban szerepelnek a HHP kezelt, illetve PEF kezelt minták adatai. Egy kezelés típuson belül mind a két levet ábrázoltam, a narancsszínűek a narancslevet, míg a piros, bordó színűek az almalevet szemléltetik. Az ábrákban megjelenő adott színen belüli intenzitás pedig a kezelési intenzitást jelzi, amely minél fakóbb árnyalatú, annál nagyobb intenzitású volt. Az ábraszorozat végén a 66. és 67. ábra a 80 °C hőmérsékleten végzett PEF kezelések utáni összfenol és gyökfogó aktivitást mutatja be. Ezen a hőmérsékleten HHP kezelést nem végeztem tekintettel a berendezés műszaki korlátaira.



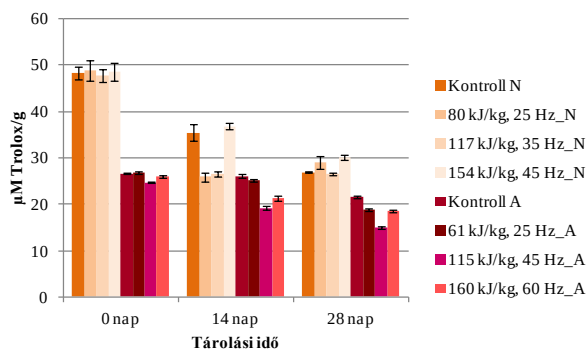
54. ábra 20 °C-on HHP kezelt levek gyökfogó kapacitása



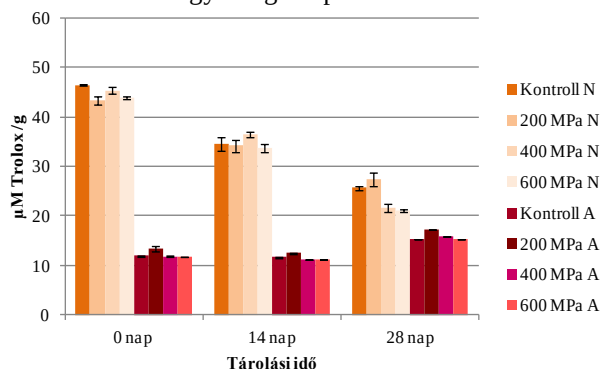
55. ábra 20 °C-on PEF kezelt levek gyökfogó kapacitása



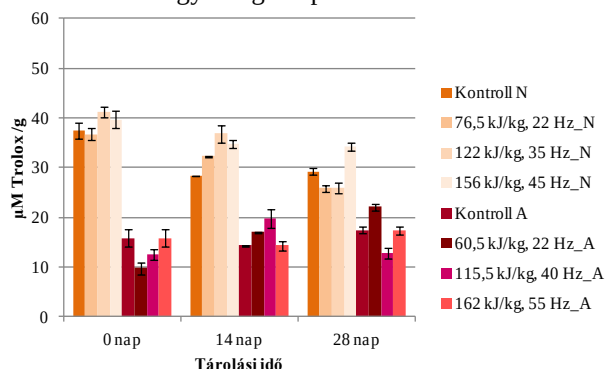
56. ábra 50 °C-on HHP kezelt levek gyökfogó kapacitása



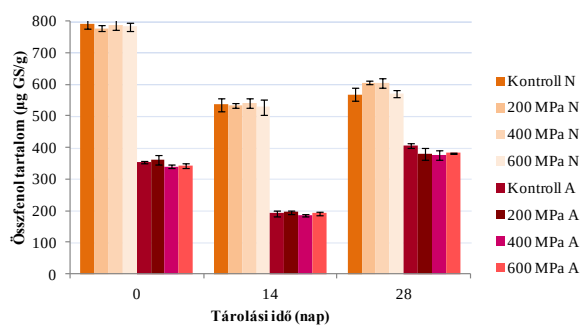
57. ábra 50 °C-on PEF kezelt levek gyökfogó kapacitása



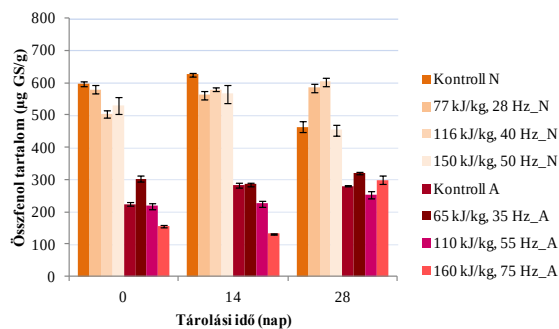
58. ábra 60 °C-on HHP kezelt levek gyökfogó kapacitása



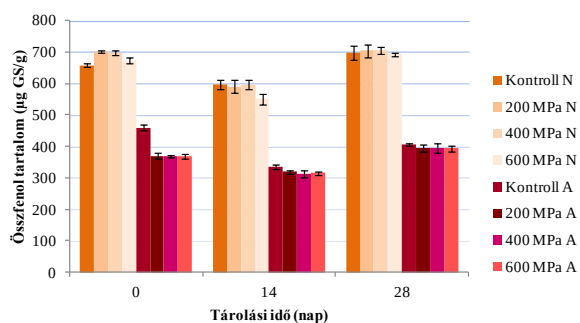
59. ábra 60 °C-on PEF kezelt levek gyökfogó kapacitása



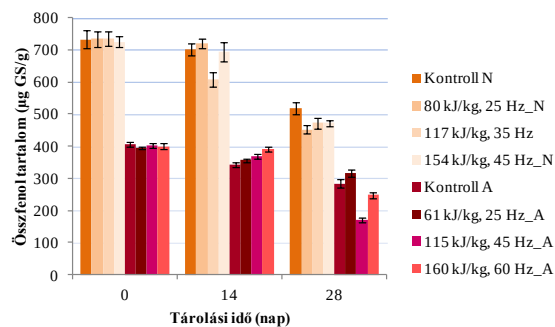
60. ábra 20 °C-on HHP kezelt levek összfenol tartalma



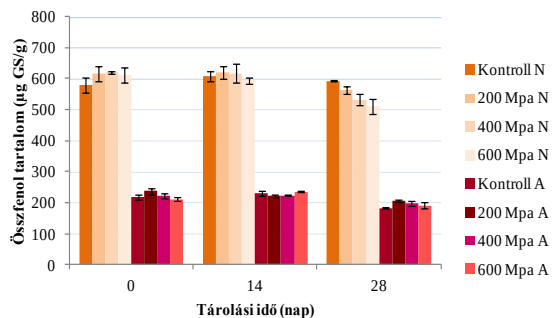
61. ábra 20 °C-on PEF kezelt levek összfenol tartalma



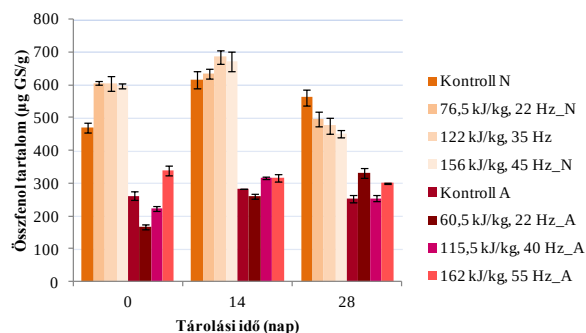
62. ábra 50 °C-on HHP kezelt levek összfenol tartalma



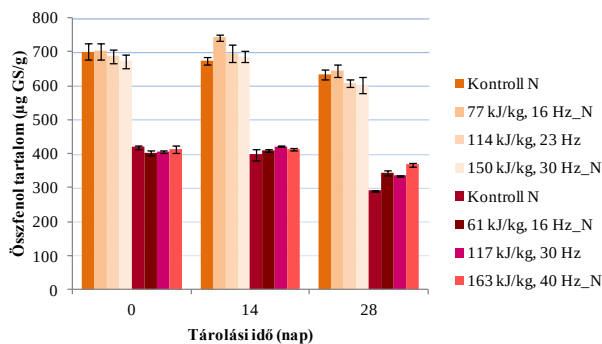
63. ábra 50 °C-on PEF kezelt levek összfenol tartalma



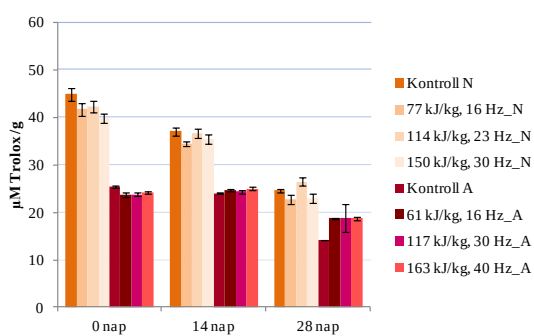
64. ábra 60 °C-on HHP kezelt levek összfenol tartalma



65. ábra 60 °C-on PEF kezelt levek összfenol tartalma



66. ábra 80 °C-on PEF kezelt levek összfenol tartalma



67. ábra 80 °C-on PEF kezelt levek gyökfogy aktivitása

A gyökfogó aktivitást vizsgálva a következők állapíthatók meg: 20 °C kezelési hőmérséklet (54. ábra) mellett a 0. tárolási napot nézve a növekvő nyomás nem változtatta meg narancslé gyökfogó tartalmát jelentős mértékben. A kontroll minta gyökfogó aktivitása: 48,58 μM Trolox/g volt, ami a nyomás növelésével a következőképpen változott: 48,60; 47,50; 46,17 μM Trolox/g. A 14. tárolási napra azonban jelentős mértékű csökkenést tapasztaltam (24,8%-os), és ez fokozódott a 28. tárolási napig (35,41%). Ugyanez a tendencia megfigyelhető volt almalé esetében is. Ha ugyanezen a hőmérsékleten nézem a PEF kezeléseket (55. ábra), azt tapasztaltam, hogy a növekvő kezelési intenzitással nem csökkent a narancslé gyökfogó tartalma, valamelyest még emelkedett is és ez a tendencia megmaradt a 14. tárolási napra, viszont a 28. tárolási napon csökkenés volt megfigyelhető. Almalé esetében is kisebb emelkedést véltem felfedezni a növekvő intenzitás alkalmazásával. Az 50 °C kezelési hőmérsékletet (56. ábra) összehasonlítva a szobahőmérsékleten végzett HHP kezelésekkal, nem találtam jelentős eltérést, még a 0. és 28. tárolási napok közötti differencia is megegyezett a két hőmérséklet esetében. Ez a tendencia az almalé esetében is jellemző volt. A 60°C hőmérsékleten végzett kezeléseknél (58. ábra) azonban a 28. tárolási napra nagyobb mértékű csökkenést figyeltem meg, mint az előzőek aránya. A 80 °C rögzített hőmérsékleten vizsgált PEF kezelt narancslé gyökfogó kapacitásánál folyamatos csökkenést tapasztaltam (67. ábra).

Az összfenol eredmények az emelkedő nyomásszint, illetve növekvő térerőintenzitás hatására a következőképpen alakultak. A 20 °C rögzített hőmérsékleten, a HHP (60. ábra) és PEF (61. ábra) kezelések esetében némi csökkenés volt felfedezhető a kontroll mintához viszonyítva, még az 50 °C alkalmazása mellett (62. ábra) már észrevehető, hogy már 200 MPa nyomás alkalmazása is növekedést hozott, azonban PEF kezelés esetében is (63. ábra) növekedés volt. Amikor a 60 °C rögzített hőmérsékleten végzett PEF és HHP kezelések hatását vizsgáltam, a következőket tapasztaltam. Narancslé HHP kezelése esetén (64. ábra) a kontroll minta összfenol tartalma $578,87 \pm 25,34 \mu\text{gGS/g}$. A nyomásnövekedéssel tapasztalható némi változás, amely azonban nem szignifikáns. A PEF kezelésnél (65. ábra) viszont a kontroll mintához ($468,76 \pm 14,84 \mu\text{gGS/g}$) viszonyítva, az emelkedő térerő intenzitással az összfenol tartalom értéke még magasabb lett (76,5 kJ/kg energiainput esetén $605,14 \pm 5,505 \mu\text{gGS/g}$). Adataimat nemzetközi kutatásokkal összevetve elmondható, hogy viszonylag kevés még az irodalom a PEF kezelés a vizsgált anyagok, leginkább gyümölcslevek fenoltartalmára kifejtett hatására vonatkozólag. Narancslé esetében SÁNCHEZ-MORENO és munkatársai (2005) a PEF kezelés fenolos tartalomra kifejtett hatását vizsgálva megállapították, miszerint egy 35 kV/cm térerősségű, 750 μs kezelési idejű, 4 μs impulzusszélességű bipoláris hullám alakú

pulzust alkalmazva 800 Hz frekvencián az összes flavonok tartalmában nem vélték változásokat felfedni. Ugyanezen szerzők a kontroll és hőkezelt mintákhoz képest, a polifenol komponensek nagyobb mennyiségét találták a nagynyomás kezelt narancslevelekben. Az eredményeinkhez hasonló következtetéseket hozott a PEF kezelés összefenol tartalmára kifejtett hatására vonatkozólag. BALASA és munkatársai (2006) borszőlőben (*Vitis vinifera*) alacsony intenzitású pulzáló elektromos térerő által indukált olyan folyamatokat vizsgáltak, mint a növényi pigmentek kivonhatóságát és másodlagos metabolit termelést. A PEF kezelt mintákban a frissen préselt szőlőléhez viszonyítva, amikor 0,5-2,4 kV/cm térerősséget alkalmaztak 50 impulzusszámmal, az összfenol tartalom növekedése 13-28 % mértékű volt, amely a magasabb fokú sejtmembrán permeabilizációjának volt köszönhető a magasabb térerő intenzitás alkalmazásával. Ezt a mérséímnél is megfigyeltem, amikor az összfenol tartalom változását vizsgáltam a növekvő térerőintenzitás függvényében.

A nagy hidrosztatikai nyomású kezelésekről az a jellemző vélemény, hogy befolyásolja a vitaminok stabilitását és néhány bioaktív komponens extrakciós kihozatalát (OEY és mtsi 2008 b). Mindamellet a nyomás hatása az antioxidáns tulajdonságokra nem ugyanolyan különböző élelmiszereket tekintve. Az irodalmi adatok szerint észrevehető, hogy mind a tárolás, mind idő-nyomás összefüggés, továbbá az élelmiszermatrix meghatározó tényező.

DALMADI és munkatársai (2011) azt tapasztalták, hogy a nagy hidrosztatikai nyomású kezelés után, a bogyós gyümölcsök bioaktív komponensek visszatartásában a tárolási hőmérsékletnek jelentős szerepe volt. Kutatásuk szerint a szobahőmérsékleten tárolt minták komponensei csökkentek a leginkább, majd ezt követte a 10 °C tárolási hőmérséklet, de végül a legkisebb mértékű csökkenést akkor tapasztalták, amikor 5 °C tárolást alkalmaztak. A legkisebb tárolási hőmérséklet számszerűsítve 70-80%-os antocianin megőrzést eredményezett, összehasonlítva a szobahőmérsékleten tárolt minták 11-15%-os értékével.

Az antioxidáns aktivitás nyomásfüggését vizsgálva, PATRAS (2009 a,b) magasabb antioxidáns aktivitást talált magasabb nyomás alkalmazása esetén (600 MPa), összehasonlítva alacsonyabb, 400 MPa nyomással, szamócapürék kezelésénél. Ezzel szemben OEY és mtsi (2004) azt közölték, hogy a narancslé antioxidáns kapacitása csökkent az emelkedő nyomással (100-800 MPa), 30-65 °C kezelési hőmérsékleten a kezelési idő függvényében (emelkedő egészen 90 percig). Ezek szerint azt is mondhatjuk, hogy az aszkorbinsav egy olyan bioaktív komponens, amely a gyökfogó kapacitás alakulásához jelentősen hozzájárulhat.

A biológiailag aktív komponenseket vizsgálva, mind az összfenol tartalom, mind a gyökfogó kapacitás tekintetében elmondható, hogy a PEF és HHP kezelések során alkalmazott

emelkedő kezelési hőmérséklet sem okozott jelentős változást ezekben a tulajdonságokban, tehát nem volt károsító hatása ezekre nézve. A PEF kezelés esetén az összfenol értékekben még emelkedést is megfigyeltem, amely a magasabb térerő intenzitás alkalmazásával a magasabb fokú sejtmembrán permeabilizációjának volt köszönhető. Mindezek megerősítik a kombinált hő és PEF, illetve HHP kezelések hatékonyságát és kímélő hatását az összfenol tartalom és gyökfogó kapacitás tekintetében. Mindezek megerősítik a kombinált hő és PEF, illetve HHP kezelések hatékonyságát és kímélő hatását az összfenol tartalom és gyökfogó kapacitás tekintetében.

.

5 ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK, TÉZISEK

1. Megállapítottam, hogy a három frissen facsart citruslé (narancs, grépfrút, mandarin) esetében alkalmazott pulzáló elektromos térerő (28 kV/cm , 50 impulzusszám, 2 μ s impulzusszélesség) és a nagy hidrosztatikai nyomású technológia (600 MPa, 10 perc) nem okozott szignifikáns változást, azaz nem befolyásolta a levek fiziko-kémiai tulajdonságait (pH, Brix°, vezetőképesség), és a szerves anyag savtartalmát.
2. A citruslevek (narancs, grépfrút, mandarin) illékony komponenseinek vizsgálataihoz használt elektronikus orr és nyelv alkalmazása sikeresnek bizonyult. Alkalmazásuk során megállapítottam, hogy a 28 kV/cm térerősséggel 100 μ s kezelési idejű PEF- és 600 MPa nyomású és 10 perc kezelési idejű HHP kezeléseket sikeresen elkülönítették ezek a műszerek.
3. Az *Alicyclobacillus acidoterrestris* DSMZ 2498 mikroorganizmussal beoltott alma – és narancslé kombinált hő és PEF, illetve hő és HHP kezelések vizsgálatával megállapítottam, hogy a spórák és vegetatív sejtek inaktivációja szempontjából a leginkább meghatározó tényező a hőmérséklet volt, amelynek emelkedésével tendenciaszerű csökkenés volt megfigyelhető. Továbbá megállapítottam, hogy kombinált hő és HHP kezeléssel az *Alicyclobacillus acidoterrestris* spórái és vegetatív sejtjei eredményesebben inaktiválhatók.
4. Megállapítottam, hogy a pulzáló elektromos térerő önmagában, és hőmérséklettel kombinált kezelés formájában is, 95%-os megbízhatósági szinten az *Alicyclobacillus acidoterrestris* DSMZ 2498 mikroorganizmussal beoltott lé összfenol tartalmában növekvő jelleget mutat, ami akár a 20 %-os növekedést is elérhet.
5. A kanonikus diszkriminancia elemzés segítségével bemutattam, hogy az elektronikus orr képes volt megkülönböztetni az *Alicyclobacillus acidoterrestris* mikroorganizmussal beoltott alma és narancsleveken belül a különböző kezelési típusokat, úgy, mint PEF és HHP kezelés. Továbbá a PEF kezeléseken belül is képes volt a kis, közepes és nagy térerővel történő méréseket, illetve HHP kezelés esetén a 200, 400, 600 MPa nyomáson kezelt mintákat elkülöníteni.
6. Többváltozós matematikai statisztikai módszerek alkalmazásával, az elektronikus orr szenzor jelválaszai alapján kimutattam, hogy a gyümölcsleveket (alma, narancs) illékony komponenseire a hővel kombinált HHP és PEF kezelések körülményei eltérő mértékben hatnak, és a vizsgált faktorok befolyását tekintve a következő sorrend állítható fel. Legnagyobb hatása a kezelési hőmérsékletnek (20, 50, 60, 80 °C) volt,

amit a tárolási idő (0,14,28 nap), majd a technológiai paraméterek (elektromos térerő, alkalmazott nyomás) hatása követett.

6 JAVASLATOK

Doktori munkámban gyümölcslevelek kíméletes tartósítása céljából a pulzáló elektromos térerő és a nagy hidrosztatikai nyomású technológiát vizsgáltam. A citruslevelek PEF (28 kV/cm, 2 μ s, n=50 pulzus) és HHP kezelését (600 MPa, 5 perc) követően a levek fiziko-kémiai- és színparaméterek vizsgálatai mellett szerves sav – és illékony aromakomponensek vizsgálatát végeztem, hogy átfogóbb képet kaphassak a kezelés által okozott hatásokról. Kémiai érzékelősorokat alkalmaztam, nevezetesen az elektronikus-orr és elektronikus nyelvet további analízisek céljából, annak megválaszolására, hogy az elektronikus orr- és nyelv képes-e a gyümölcslé típusonkénti elválasztásokra. Mindkét műszer sikeresen elkülönítette a leveket és a leveken belül az egyes kezeléstípusokat, tehát tulajdonképpen a kíméletes technológiák közül, a PEF és HHP technológia elektronikus orr-és nyelv segítségével végzett összehasonlítása megvalósult. A kutatás folytatásaként a vizsgálataimhoz az *Alicyclobacillus acidoterrestris* DSMZ 2498 mikroorganizmust választottam ki, mivel jelenléte a gyümölcslé iparágon belül mindinkább égető problémává nőtte ki magát, kedvezőtlené téve a érzékszervi tulajdonságokat, következésképpen élelmiszerbiztonsági és gazdasági károkat is okozva ezzel. Kombinált hő- és eltérő intenzitású PEF, illetve HHP kezeléseket végeztem inaktivációjának vizsgálata céljából, melynek során megállapítottam, hogy a spórák és vegetatív sejtek szempontjából a legmeghatározóbb tényező a hőmérséklet volt, így kombinált hő és HHP kezeléssel sikeresen inaktiválható az *Alicyclobacillus acidoterrestris* spórái és vegetatív sejtjei. A kombinált hő- és PEF, illetve HHP kezeléseket mellett szól az is, hogy az összfenol tartalom és gyökfogó aktivitás vizsgálatakor bebizonyosodott, hogy a kezeléseknél nem volt károsító hatása e tulajdonságokra nézve. Mindezek az eredmények felhívják a figyelmet a kombinált kezelések alkalmazásának lehetőségeire, amelyek költséghatékonyabb megoldások is lehetnek. Tekintettel arra, hogy a technológia költsége az adott nyomáson tartástól jelentősen függ, így ajánlatos csökkenteni a kezelési időt és megemelt hőmérsékleten alkalmazni a technológiát. A nyomás és hőmérséklet kombinációjának alkalmazása alapvető az *Alicyclobacillus acidoterrestris* inaktivációjának szempontjából, mivel annak növekedése 12-80 °C között lehetséges. Az *Alicyclobacillus acidoterrestris* mikrobiológiai vizsgálataival továbbá rávilágítottam a hűtve tárolás fontosságára, amely jelen esetben a mikroba szaporodását gátló tényező is volt. Így a kíméletes technológiával kezelt gyümölcslevelek tárolásánál törekednünk kell a hűtve tárolásra. A kezeléseket összehasonlítására és elkülönítésére irányuló elektronikus orr vizsgálatok sikeresek voltak, mind az egyes kezeléstípusok, mind a kezeléstípusokon belül a különböző intenzitású PEF-és HHP

paraméterek elválasztására. Mindezek az eredmények további ígéretes kutatási lehetőségeket mutatnak.

7 ÖSSZEFOGLALÁS

A fogyasztói igények az egészséges, friss jellegű élelmiszerekre, amelyek a tartósítási folyamat során is megőrzik tápértéküket, mindinkább hangsúlyozzák a „novel” azaz kíméletes technológiák fejlesztésének jelentőségét. Ennek megvalósulására jó választás lehet a pulzáló elektromos térerő és nagy hidrosztatikai nyomású technológia alkalmazása. Mind a pulzáló elektromos térerő, mind a nagy hidrosztatikai nyomású technológia alternatív, kíméletes, nem hőkezelésen alapuló eljárások. A két technológia kiemelkedő előnye, hogy nagy visszatartással az aroma-, szín-, íz- és tápérték tulajdonságok fennmaradnak a mikroorganizmusok elpusztítása mellett is (MERTENS et al. 1995), így megmaradhatnak a zöldségek és gyümölcsök tápértéke (OEY et al. 2007) és kedvező érzékszervi tulajdonságai egyaránt.

Első kísérletsorozataimban citruslevelekkel dolgoztam, amelyeket PEF kezelésnek (28 kV/cm, n=50 impulzus) és HHP kezelésnek (600 MPa) vettem alá. A fiziko-kémiai és színparaméterek vizsgálatai mellett szerves sav – és illékony aromakomponensek vizsgálatát végeztem, hogy átfogóbb képet kaphassak a kezelés által okozott hatásokról. Kémiai érzékelősorokat alkalmaztam, nevezetesen az elektronikus orr és elektronikus nyelv műszert annak megválaszolására, hogy lehetséges-e e műszerek használatával a kezelések és gyümölcslétípusonkénti elválasztása. Ez alapvető fontosságú volt, hiszen korábban a kíméletes technológiák (PEF és HHP) összehasonlítását nem végezték el ezekkel a műszerekkel.

Az egyre növekvő fogyasztói igényekből adódóan az élelmiszer technológiai fejlesztések folyamatosan változó kihívásokkal szembesülnek. Az élelmiszerek fogyasztói elutasításának az egyik leggyakoribb oka a kellemetlen íz és évről évre az élelmiszeripar panaszos visszajelzéseket kap a fogyasztóktól a mellékszagra vonatkoztatva, amely a friss, kezelt és csomagolt termékek esetén jelentkezhet. Az *Alicyclobacillus acidoterrestris* spp. jelenléte olyan probléma az üdítőiparban, amely mindenképpen megoldásra szorul, tekintettel arra, hogy megjelenésével kedvezőtlennek teszi az érzékszervi tulajdonságokat, következésképpen élelmiszerbiztonsági és gazdasági károkat is okoz ezzel. Ez indokolta a kíméletes és hagyományos technológiák kombinációjával elérhető inaktiváció vizsgálatát. A mikroorganizmus jelenlétében a lé zavarossága figyelhető meg és erős mellékszagot áraszt, amely a gvajakol termelődésének köszönhető. Így tehát a technológiák hatékonyságát vizsgálva 100%-os gyümölcstartalmú alma – és narancslébe beoltottam az *Alicyclobacillus acidoterrestris* DSMZ 2498 mikroorganizmust. Kombinált hő (20, 50, 60 °C) és nagy hidrosztatikai nyomású kezelést alkalmaztam (200, 400, 600 MPa, 10 perc kezelési idővel),

illetve kombinált hő (20, 50, 60, 80 °C) és pulzáló elektromos térerővel történő kezeléseket végeztem három kezelési szinten a befektetett energiát figyelembe véve. Az így kezelt mintákat 4 hét időtartamig 4 °C-on tároltam. A 4 hetes tárolás során a mikrobiológiai analízis mellett mértem a fiziko-kémiai változásokat, illetve színparamétereket, továbbá az illékony aromakomponensek esetleges változásainak mérésére elektronikus orrt alkalmaztam.

Doktori munkám során a következő kérdéseket tettem fel:

1. Választ kerestem arra, hogy a három frissen facsart beoltatlan citruslé (narancs, grépfrút, mandarin) esetében a pulzáló elektromos térerő és nagy hidrosztatikai nyomású technológia alkalmazása milyen hatást gyakorol a fiziko-kémiai tulajdonságokra, beleértve színtulajdonságokat is, szerves savakra, illetve illékony aromakomponensekre.
2. A beoltatlan levek illékony komponenseinek vizsgálataihoz elektronikus orrt és – nyelvet alkalmaztam. Tekintettel arra, hogy a szakirodalomban nem találtam olyan adatot, ahol PEF – és HHP kezelést elektromos orr és – nyelv segítségével hasonlítani össze, így céljaim között volt annak megállapítása, hogy vajon ezek az elektronikus berendezések alkalmassá válhatnak-e a kezelési típusok megkülönböztetésére, összehasonlítására, illetve szolgálhatnak-e esetleges detekciós rendszerként?
3. Annak a meghatározása, hogy az *Alicyclobacillus acidoterrestris* DSMZ 2498 mikroorganizmussal beoltott alma – és narancslé PEF és HHP kezelése hogyan kombinálható a hőkezeléssel és a két technológia hatását mennyire befolyásolja az alkalmazott hőmérséklet, illetve a 4 hetes tárolási idő? Milyen változásokat okozhat a fent említett paraméterek meghatározása mellett az összfenol- és gyökfogó tulajdonságban?
4. Az elektronikus orr képes-e megkülönböztetni a különböző nyomás- és hőmérséklet szinteken, illetve PEF kezelés esetében a különböző térerősséggel-és hőmérsékleten kezelt, majd különböző időtartamig tárolt gyümölcsleveket? További kérdésként merült fel, hogy ha az elektronikus orr PEF és HHP kezeléseket között különbséget tesz, akkor egy adott kezeléstípuson belül a különböző paraméterekkel kezelt levek között is képes-e különbséget tenni?

Az eredményeket vizsgálva megállapítottam, hogy sem a beoltatlan citrusleveket, sem a beoltott gyümölcsleveket esetén nem volt a pulzáló elektromos térerő, illetve a nagy

hidrosztatikai nyomású technológia hatásaként bekövetkező szignifikáns különbség a fiziko-kémiai tulajdonságok (pH, Brix°, vezetőképesség) terén. A tristimulusos színvizsgálat eredményei azt mutatták, hogy a kontroll és kezelt minták szignifikánsan eltértek egymástól. Elmondható, hogy azok a citruslevelek, amelyeket PEF kezelésnek vetettünk alá, a sárgás szín jelleg felé erősebb tendenciát mutattak és kevésbé meghatározót a piros szín jellegére. Grépfrútlé esetében pedig a kontroll és HHP kezelt mintákat figyelembe véve a ΔE^* értékek alapján a változás észrevehető különbséget mutatott, a lé sötétedett.

A beoltott leveket vizsgálva viszont, ahol kombinált hő – és PEF, illetve HHP kezelést alkalmaztam megállapítottam, hogy míg a HHP kezelés során adott nyomásszintek alkalmazásával, emelkedő hőmérséklet mellett az L^* értéke nő – tehát világosodik a lé –, addig a PEF kezelés során különböző térerősségek alkalmazásával az emelkedő 4 hőmérsékletszintet figyelembe véve az L^* értéke csökken, tehát ebben az esetben a lé sötétedik. Érdekes, hogy ha a tárolási idő előrehaladtával vizsgáltam egy adott hőmérsékletű kezelés hatását, akkor megállapítható volt, hogy eredményeim szerint a magasabb nyomásszinteken kezelt levek világosabbá válnak.

A HHP kezelés során a kezelési hőmérséklet emelése, míg PEF kezelés során a csökkenése eredményezte a b^* értékének csökkenését. Az a^* érték csökkenését eredményezte a HHP kezelt minták esetén a nyomás és kezelési hőmérséklet emelkedése, míg PEF kezelés esetében a növekvő térerő intenzitás emelkedő a^* értékben mutatkozott meg.

A szerves savak és illékony komponensek vizsgálata során megállapítottam, hogy a PEF kezelést követően a szerves savak tartalma kevésbé csökkent a citruslevelekben a HHP kezelt levekhez viszonyítva. Szakirodalmi adatokra és eredményeimre támaszkodva azt a következtetést vontam le, miszerint a kezeléseket követő megnövekedett savtartalom egyes esetekben összefügghet a felszabaduló aromakomponensek feldúsulásával. Az illékony aromakomponensek vizsgálatánál megállapítható volt, hogy az etil észterek mennyisége nem csökkent PEF kezelést követően. A főbb terpének esetében narancslé mintákban megemelkedett limonén szintet mértem, amely a PEF kezelés hatására kialakuló apróbb szemcseméreteknak köszönhető. Mindamellet ez a szint a HHP kezelést követően csökkent, a valencén mennyiségének növekedése mellett. Mindezek az aroma skalpolás jelenségét hivatottak bemutatni.

A kémiai érzékelősorokkal végzett mérések alapján megállapítható, hogy mind az elektronikus orr, mind az elektronikus nyelv alkalmas az új technológiákkal kezelt (PEF, HHP) citruslevelek megkülönböztetésére, azaz az érzékszervi és illékony komponensek esetleges változásait sikeresen nyomon követték. Ahogy az a CDA keresztvalidáció

tévesztési mátrixának adatai alapján látható, a kontroll minták csak közel felét sikerült a helyes csoportba sorolni, ami arra enged következtetni, hogy az alkalmazott kezelések szintjei nem okoztak drasztikus változást a kezelt minták illékony komponenseiben.

Az *Alicyclobacillus acidoterrestris* (DSMZ 2498) mikroorganizmussal beoltott alma és narancslé vizsgálataihoz elektronikus orrt alkalmaztam. Az előzőekben megállapítottam, hogy e berendezések alkalmasak egyes technológiával kezelt minták elkülönítésére. Arra is választ kaptam, hogy egy adott technológiát tekintve, ha különböző paraméterekkel (nyomás, térerő) végzem a méréseket, szintén elkülöníthetem az így kezelt mintákat egyes paramétereik szerint. Az elektronikus orr jelválaszai alapján végzett lineáris diszkriminancia analízis kimeneti értékeit figyelembe véve a szétválasztásnál a HHP kezelt minták esetében legmeghatározóbb tényező a gyümölcsle típusa volt, majd a kezelési hőmérséklet, tárolási idő, végül pedig az alkalmazott nyomás. A PEF kezelt leveknél is ugyanez a sorrend volt a tendencia, utolsóként az energia input értékekkel. Az eredmények bebizonyították, hogy az elektronikus orr kiváló eszköz a kéméletes technológiák hatékonyságának vizsgálataihoz. Mindezekon felül kiváló képet nyújt a kéméletes technológiákat meghatározó kritikus paramétereiről is.

A mikrobiológiai vizsgálatokat tekintve megállapítottam, hogy kombinált hő – és nagy hidrosztatikai nyomású, illetve pulzáló elektromos térerő kezeléssel az *Alicyclobacillus acidoterrestris* mikrobiális inaktivációja elérhető az alkalmazott paraméterek kombinációjától függő mértékekben. Az *Alicyclobacillus acidoterrestris* (DSMZ 2498) mikroorganizmussal beoltott alma és narancslé minták szobahőmérsékleten (20 °C) végzett HHP kezelését követően sem a spórák, sem a vegetatív sejtek száma nem csökkent jelentősen. Az 50 °C kezelési hőmérséklet mellett a spórák esetében már 200-600 MPa nyomás alkalmazása mellett 2-3 log csökkenést tapasztaltam, míg a vegetatív sejteknél a nyomásszint emelésével azok számát a kimutathatósági határ alá csökkentettem. Egy további 10 °C emelés pedig jelentősebb mértékű inaktivációt eredményezett. Tehát az emelkedő kezelési hőmérséklet magasabb inaktivációs szintet eredményezett.

A beoltott levek PEF kezelését követően 20 °C kezelési hőmérséklet mellett, még a kezelési szint emelésével sem történt inaktiváció, de még az 50 °C és 60 °C hőmérsékletre emelés sem volt elegendő, hogy ez a kombinált kezelés együttesen okozza a spóraszám változását. Viszont 80 °C kezelési hőmérséklet alkalmazása mellett már jelentősebb inaktivációt értem el. Az emelkedő erősségű kezelést követve tendenciaszerűen csökkent a spórák és vegetatív sejtek száma. A vegetatív sejtek tehát természetesen a PEF kezelésre érzékenyebben reagáltak a spóráknál. Az elért inaktiváció fennmaradt a 4 °C-on történő tárolás alatt is, valójában néhány esetben a tárolás előrehaladtával még erősödött is. Ez az eredmény pedig

felhívja a figyelmet a kíméletes technológiákkal kezelt élelmiszerek hűtve tárolásának fontosságára is.

A biológiailag aktív komponenseket vizsgálva, mind az összfenol tartalom, mind a gyökfogó kapacitás tekintetében elmondható, hogy a PEF és HHP kezelések során alkalmazott emelkedő kezelési hőmérséklet sem okozott jelentős változást ezekben a tulajdonságokban, tehát nem volt károsító hatása ezekre nézve. A PEF kezelés esetén az összfenol értékekben még emelkedést is megfigyeltem, amely a magasabb térerő intenzitás alkalmazásával a magasabb fokú sejtmembrán permeabilizációjának volt köszönhető. Mindezek megerősítik a kombinált hő és PEF, illetve HHP kezelések hatékonyságát és kímélő hatását az összfenol tartalom és gyökfogó kapacitás tekintetében. Mindezek megerősítik a kombinált hő és PEF, illetve HHP kezelések hatékonyságát és kímélő hatását az összfenol tartalom és gyökfogó kapacitás tekintetében.

8 SUMMARY

The consumer demands for healthy, fresh-like food products, which retain their nutritional value during preservation, emphasize more and more the importance of development of mild, so called “novel” technologies. For the realization of it the application of pulsed electric field (PEF) and high hydrostatic pressure technology (HHP) seem to be a good choice. Both the pulsed electric field and the high hydrostatic pressure techniques are alternative, mild, non-heat based preservation processes. The outstanding advantage of these techniques is that the aroma-, colour-, flavour- and nutritional properties maintain with high retention beside the inactivation of microorganisms (MERTENS et al. 1995). Consequently, the nutritional value and favourable sensory properties of fruits and vegetables (OEY et al. 2007) can be remained.

As it is in the manuscript presented, citrus juices were used in the first experimental part, which were subjected to PEF (28 kV/cm electric field strength, n=50 pulse number) and HHP treatment (600 MPa). Beside the investigation of physical-chemical and colour properties, the measurement of organic acid and volatile compounds were also accomplished to get an overall feedback from their possible changes as an effect of the treatments. Chemosensor arrays, such as electronic tongue and nose were applied to investigate whether the separation is possible which is based on the treatment and fruit juice type. The clarification of this statement was of primary interest as far as the comparison of mild technologies (PEF and HHP) had been never done earlier with these equipments.

Because of the increasing consumer demands, food technology innovations are facing continuous changing challenges. One of the most common reasons of consumer rejection is the undesirable flavour and year in year out the food industry gets complainant feedbacks referred to the off-odour which can occurred in the fresh, processed and packed products.

The presence of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spp. causes such problems for the beverage industry which have to be solved anyhow, because with its appearance makes the sensorial properties inauspicious. In the presence of this microorganism the cloud of juice can be observed giving off a strong odour due to the production of guaiacol. Accordingly it induces food safety and economical damages, as well. All these facts underline the importance of the inactivation studies which can be reached by the combination of mild and traditional preservation technologies.

Therefore 100 % content apple and orange juice were inoculated by the *Alicyclobacillus acidoterrestris* (DSMZ 2498) microorganism to examine the effectiveness of these novel technologies.

Combined heat (20, 50, 60 °C) and high hydrostatic pressure (200, 400, 600 MPa for 10 minutes) treatment, respectively combined heat (20, 50, 60, 80 °C) and pulsed electric field treatment (3 different levels concerning the energy input) were applied. Afterwards the treated samples were stored at 4 °C temperature up to a period of 4 weeks. Beside the microbiological analysis, physical-chemical and colour parameters had been measured during this 4 weeks storage period (0, 14, 28 days). Furthermore, electronic nose was applied to detect possible changes in the volatile compounds.

Relying upon the statements the following questions were arisen during the doctoral thesis:

1. What type of effect has the application of pulsed electric field and high hydrostatic pressure technique on the physical-chemical properties, included the colour parameters, the organic acids, respectively on the volatile compounds in case of the three freshly squeezed, uninoculated citrus juices (orange, grapefruit, tangerine)?
2. Due to the lack of reference studies concerning the comparison of the two techniques (PEF and HHP) with the help of electronic nose and tongue additional research questions were included: are the electronic instruments able to separate and compare the treatment types? Might they even serve as possible detection systems?
3. How could be the PEF and HPP treatment combined with the heat treatment in case of apple and orange juice, which were inoculated with *Alicyclobacillus acidoterrestris* (DSMZ 2498) microorganism? Is the effectiveness of the two treatment types affected by the applied treatment temperatures respectively the 4 weeks long storage time? What types of changes can be observed in the properties of total phenolic and radical scavenging activity beside the determination of the parameters mentioned above?
4. Is the electronic nose able to distinguish between the distinct inoculated fruit juice samples which were treated with different parameters concerning pressure, electric field strength as well as temperature levels and were stored for different periods? Since the electronic nose had been able to differentiate between the HHP and PEF treated juices, afterwards the question was arisen, whether it would be also possible to distinguish between different parameters within one treatment type?

Concerning the results it could be established that no significant differences were observed in the physical-chemical properties (pH, Brix°, conductivity) as an effect of the pulsed electric field and high hydrostatic pressure treatment in case of uninoculated citrus juices, and inoculated fruit juices. The results obtained by the tristimulus colour measurement showed that the control and the treated samples were differentiated significantly from each other. It could be established that those citrus juices which were treated by PEF, showed a stronger tendency to the yellow colour tone. In the comparison of control and HHP treated samples of grapefruit juice also visible differences were observed according to the counted value of ΔE^* parameter.

By applying combined heat- and PEF, respectively heat- and HHP technique in case of the inoculated juices the followings were established: with the increase of treatment temperature during the HHP treatment the L^* lightness value showed increasing tendency when different pressure levels were used. Contrary with the increasing temperature levels the decrease of the L^* value could be observed after the PEF treatment. It meant that the PEF treated juice samples showed darker tincture. Taking the passing of storage time into consideration during treating on a given temperature level, the colour results showed the following tendency: those samples became brighter which were treated on higher pressure levels.

The increase of temperature in HHP treatments and the decrease of temperature in PEF process resulted in a decrease of the b^* value. A decrease of the a^* value was reached by increasing the pressure and the temperature level. In contrast, applying higher electric field strength in PEF process, also a higher value of a^* was observed.

Regarding the analysis of organic acid and volatile compounds it could be established, that the amount of acids decreased in smaller rate in the citrus juices after the PEF treatment compared to the HHP treated juice samples. Based on the reference literature and the results of this study it can be concluded that possibly the higher amount of acid content after the treatment can be due to the extended concentration of compounds. According to the analysis of volatile compounds it can be established that the quantity of ethyl-esters did not decrease significantly after the PEF treatment. The quantity of the limonene level which is one of the main terpene components seemed to be higher in case of orange juices. This phenomenon can be a result of the treatments. Namely, as an effect of the treatment more volatile compounds could have been possibly released because of the smaller particle size. Nevertheless this content decreased after the HHP treatment, whilst the valence content – as an other main terpene component – increased which points to the phenomenon of aroma scalping.

Based on the measurements made by sensor arrays it was clear that both the electronic tongue and the electronic nose were able to discriminate those citrus juice samples which were treated by the new techniques (PEF, HHP). Consequently, they could successfully follow up the possible changes of volatile compounds during the preservation process. As it can be seen in the results of confusion matrix of CDA cross-validation, only the half of the control samples could be ranked in the correct group, which points to the fact that the applied treatment levels did not cause drastic changes in the volatile compounds of treated samples.

Electronic nose was used for the examination of orange juice which was inoculated with *Alicyclobacillus acidoterrestris* (DSMZ 2498). As it was previously stated, these electronic instruments were able to differentiate samples which were treated by distinct new technologies. The further measurements revealed on the fact that using different parameters (pressure, electric field strength) within one technology type during the process, the treated samples were also distinguishable according to each parameter.

Taking the output values of discriminant analysis into consideration which is based on the signal response of electronic nose the following order of the parameters can be set on concerning their ability to separate: In case of HHP treated samples the most dominant factor is the type of the juice, followed by the treatment temperature, the storage time and at last the applied pressure during the treatment. In case of PEF treated juices the same tendency was observed in the ranking, displacing the pressure with energy input values. All these outcomes also demonstrate that electronic nose is an outstanding tool for the examination of the effectiveness of these novel technologies. Additionally it offers an illustrious guideline about the critical parameters of the mild technologies.

Concerning the microbiological analysis it was established that with the application of combined heat-and high hydrostatic pressure, respectively – pulsed electric field, the inactivation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* can be reached in different rates depending on the combination of the selected parameters.

After the high hydrostatic pressure treatment at room temperature (20 °C), neither the number of vegetative cells, nor the number of spores decreased in the *Alicyclobacillus acidoterrestris* inoculated apple and orange juice samples.

Regarding the spore numbers, 2-3 log reduction was observed by applying 50 °C treatment temperature with a pressure of 200-600 MPa, whilst the number of vegetative cells was reduced under the detection limit with the increase of pressure level. A further 10 °C temperature enhancement resulted in higher inactivation level. As a consequence, the increasing treatment temperature resulted in a higher inactivation level.

Even with the rise of energy input levels the inactivation could not be reached after the PEF treatment of inoculated juices at room temperature, and still the application of 50 °C and 60 °C treatment temperatures were not enough that this combined process could cause changes in the spore numbers. However, more remarkable inactivation of spores was reached by applying 80 °C temperature during the treatment. In line with increasing treatment levels the number of spores and vegetative cells showed declining tendency. Evidently, the vegetative cells responded more sensitive to the PEF treatment compared to the spores. The reached inactivation level maintained also during the 4 °C temperature storage, indeed in some cases it intensified with the passing of storage time. These results draw the attention to the importance of chilled storage of mild technology processed food.

It can be stated that during the PEF and HHP treatments even the increasing treatment temperature did not cause significant changes in the biological active compounds, neither in the total phenol content, nor in the radical scavenging activity. It means that the treatments did not have impairing effects to these properties. Moreover in case of PEF treatment an increase was observed in the total phenol content, which might be the result of the cell membrane permeabilization with a higher rate, due to the effect of the application of a higher electric field strength intensity.

All these statements strengthen the efficiency and mild effect of combined heat and PEF, respectively heat and HHP treatments concerning the total phenol content and radical scavenging activity.

MELLÉKLETEK

M1 IRODALOMJEGYZÉK

AGUILAR-ROSAS, S. F., BALLINAS-CASARRUBIAS, M. L., NEVAREZ-MOORILLON, G. V., MARTIN-BELLOSO, O., & ORTEGA-RIVAS, E. (2007). Thermal and pulsed electric fields pasteurization of apple juice. Effects on physicochemical properties and flavour compounds. *Journal of Food Engineering*, 83(1) 41–46 p.

AGUILÓ-AGUAYO, I., MONTERO-CALDERÓN, M., SOLIVA-FORTUNY, R., MARTÍN-BELLOSO, O. (2010): Changes on flavor compounds throughout cold storage of watermelon juice processed by high-intensity pulsed electric fields or heat. *Journal of Food Engineering*, 100 (1) 43-49 p.

AGUILÓ-AGUAYO, I., SOLIVA-FORTUNY, R., MARTÍN-BELLOSO, O. (2009): Avoiding non-enzymatic browning by high-intensity pulsed electric fields in strawberry, tomato and watermelon juices. *Journal of Food Engineering*, 92 37-43 p.

ALPAS, H., ALMA, L. BOZOGLU. F. (2003): Inactivation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* vegetative cells in model system, apple, orange and tomato juices by high hydrostatic pressure. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 19 619–623 p.

ALPAS, H., KALCHAYANAND, N., BOZOGLU, F., SIKES, A., DUNNE, P., RAY, B. (1999): Variation in resistance to high hydrostatic pressure among strains of food-borne pathogens. *Application of Environmental Microbiology*, 69(9) 4248-51 p.

ARONSSON, K., RÖNNER, U., BORCH, E. (2005): INACTIVATION OF *Escherichia coli*, *listeria innocua* and *Saccharomyces cerevisiae* in relation to membrane permeabilization and subsequent leakage of intracellular compounds due to pulsed electric field processing. *International Journal of Food Microbiology*. 99 19-32 p.

AYHAN, Z., YEOM, H.Y., ZHANG, Q.H., MIN, D.B.(2001): Flavor, color and vitamin C retention of PEF processed orange juice in different packaging materials. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 669-674 p.

BALASA, A., TOEPFL, S., KNORR, D. (2006): Pulsed electric field treatment of grapes. *Food Factory of the Future 3*, Gothenburg, Sweden

BÁNÁTI, D., FARKAS, J. (2010): Élelmiszeripari technológiák fejlődése a XX. és XXI. században. Élelmiszer-biztonsági Kötetek VI. Új élelmiszeripari technológiák alkalmazási lehetősége és fogyasztói megítélése, 9-30 p.

BÁNÁTI, D., SZABÓ, E., VÁMOSNÉ, F. ZS.(2012): Nagy hidrosztatikus nyomás technológiával tartósított narancslevek és zöldség-gyümölcslevek érzékszervi vizsgálatának tapasztalatai hagyományos technológiákkal összevetve. Élelmiszer Tudomány Technológia, LXVI (1) 10-18 p.

- BARBA, F.J., ESTEVE, M.J., FRIGOLA, A. (2011): Physicochemical and nutritional characteristics of blueberry juice after high pressure processing. *Food Research International*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2011.03.031>
- BARBOSA-CANOVAS, G. V., GÓNGORA, M.M., POTHAKAMURY, U. R., & SWANSON, B. G. (1999): Preservation of foods with pulsed electric fields. Academic Press, San Diego, USA
- BARBOSA-CANOVAS, G. V., POTHAKAMURY, U. R., PALOU, E., & SWANSON, B. G. (1998): Biological effects and applications of pulsed electric fields for the preservation of foods. In G. V. Barbosa-Canovas, U. R. Pothakamury, E. Palou & B. G. Swanson (Eds.), *Nonthermal Preservation of Foods* New York: Marcel Dekker Inc. , 73–112 p.
- BECZNER, J., ÁGOSTON, R., CSERHALMI, ZS., BATA-VIDÁCS, I., SZEKÉR, K. (2008): Alicyclobacillus acidoterrestris. II. rész. A kezelések hatása a baktériumra. *Alkoholmentes italok*, 3, 52-56 p.
- BENITO, A., VENTOURA, G., CASADEI, M., ROBINSON, T., MACKEY, B. (1999): Variation in resistance of natural isolates of Escherichia coli O157 to high hydrostatic pressure, mild heat and other stresses. *Application of Environmental Microbiology*, 65(4) 1564-9 p.
- BEVILACQUA, A., SINIGAGLIA, M., CORBO M.R. (2008) Alicyclobacillus acidoterrestris: new methods for inhibiting spore germination. *International Journal of Food Microbiology* 125 103–110 p.
- BLANCO, G., D., FRAGA, P. M., & MANGAS, A. J. (2001): Capillary liquid chromatographic determination of neutral phenolic compounds in apple juice. *Analytica Chimica Acta*, 426 111–117 p.
- BLASCO, R., ESTEVE, M.J., FRIGOLA, A., RODRIGO, M. (2004): Ascorbic acid degradation kinetics in mushrooms in a high-temperature short-time process controlled by a thermoresistometer. *LWT-Food Science and Technology*, 37 171-175 p.
- BORLINGHAUS, A., ENGEL, R. (1997): Vorkommen von Alicyclobacillus sp. in kommerziellen Apfelsaftkonzentraten (ASK) – Methodenentwicklung und Validierung. *Flüssiges Obst* 64(6) 306-309 p.
- BROWN, K.L. (1995): New microbiological spoilage challenges in aseptic: Alicyclobacillus acidoterrestris spoilage in aseptically packed fruit juices. In T. Ohlsson (Ed.), *Advances in aseptic processing and packaging technologies*, 1-14. Sweden: Gothenburg
- BRUHN, C. (2000): 'Food labelling: consumer needs', in Blanchfield, J. Ralph 8ed.), Food Labelling, Woodhead Publishing Limited, Cambridge
- BULL, M. K., ZERDIN, K., HOWE, E., GOICOECHEA, D., PARAMANANDHAN, P., STOCKMAN, R., SELLAHEWA, J., SZABO A, E., JOHNSON, R. L., STEWART, C.M. (2004):

The effect of high pressure processing on the microbial, physical and chemical properties of Valencia and Navel orange juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 5 135-149 p.

BUTZ, P., NEEDS, E. C., BARON, A., BAYER, O., GEISEL, B., GUPTA, B. (2003): Consumer attitudes to high pressure food processing. *Food, Agriculture & Environment*, 1(1) 30-34 p.

BUZRUL, S., ALPAS, H., BOZOGLU, F. (2005): Use of Weibull frequency distribution model to describe the inactivation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* by high pressure at different temperatures. *Food Research International*, 38 151-157 p.

CARDELLO, A. V., SCHUTZ, H. G., & LESHER, L. L. (2007): Consumer perceptions of food processed by innovative and emerging technologies: a conjoint analytic study. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8 73-83 p.

CERNY, G., HENNLICH, W. PORALLA, K. (1984): Spoilage of fruit juice by bacilli: isolation and characterization of the spoiling microorganisms. *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, 17 224-227 p.

CHEFTEL, J. C. (1995). Review: High-pressure, microbial inactivation and food preservation. *Food Science and Technology International*, 1(2-3) 75-90.

CHEFTEL, J.C., CULIOLI, J. (1997). Effects of high pressure on meat: A review. *Meat Science*, 46 (3) 211-236 p.

CIOSEK, P., WRÓBLEWSKI, W. (2007). Performance of selective and partially selective sensors in the recognition of beverages. *Talanta* 71 738-746

CONCINA, I., BORNŠEK, M., BACCELLIERE, S., FALASCONI, M., GOBBI, E., SBERVEGLIERI, G. (2010): *Alicyclobacillus* spp.: Detection in soft drinks by Electronic Nose. *Food Research International*, 43 2108-2114

CORRALES, M., TOEPFL, S., BUTZ, P., KNORR, D., TAUSCHER, B. (2008): Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, , 85-91 p.

CORTÉS, C., ESTEVE, M.J., FRÍGOLA, A. (2008). Color of orange juice treated by High Intensity Pulsed Electric Fields during refrigerated storage and comparison with pasteurized juice. *Food Control* , 19 (2) 151-158 p.

CRAVEN, M.A., GARDNER, J.W., BARTLETT, P.N. (1996): Electronic noses development and future prospects. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 15 (9) 486-493 p.

- CSERHALMI, ZS. VIDÁCS, I., BECZNER, J., CZUKOR, B. (2002): Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* and *Bacillus cereus* by pulsed electric fields. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 3 (1) 41-45 p.
- CSERHALMI, ZS., SASS-KISS, Á., TÓTH-MÁRKUS, M., LECHNER, N. (2006): Study of pulsed electric field treated citrus fruit juices. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 7 49-54 p.
- CSERHALMI, ZS. (2007): Pulzáló elektromos térerő élelmiszer-ipari alkalmazása, Élelmiszer-biztonság és minőség II: Élelmiszertechnológiák. Szerk: Balla-Síró, 140-149 p.
- DALMADI, I., FARKAS, J. (2006): Gyümölcskészítmények tartósítása nagy hidrosztatikus nyomással. *Élelmészeti ipar*, LX 12 262-264 p.
- DALMADI, I., KANTOR, D.B., WOLZ, K., POLYÁK-FEHÉR, K., PÁSZTOR-HUSZÁR, K., FARKAS J., FEKETE A. (2007). Instrumental analysis of strawberry puree processed by high hydrostatic pressure or thermal treatment. *Progress in Agricultural Engineering Sciences*, 3 (1), 47-66.
- DALMADI I., PÁSZTOR-HUSZÁR K., POLYÁK-FEHÉR K., ZEKE I., BALLA CS., FARKAS J. (2011): Effect of minimal processing (HHP or mild heat treatment) and the conditions of subsequent storage on biologically active components of berry purées. *Chinese-European Cooperation for Long-term Sustainability International Conference, 10-11 November 2011, Budapest Hungary*, http://korny.uni-corvinus.hu/cneucoop_fullpapers/
- DALMADI, I., POLYÁK-FEHÉR, K., FARKAS, J.(2007 a): Effects of pressure- and thermal-pasteurization on volatiles of some berry fruits. *High Pressure Research*, 27 (1) 169-172 p.
- DALMADI I., SEREGÉLY ZS., FARKAS J., KAFFKA K. (2007 b): Néhány többváltozós kemometriai módszer alkalmazása műszeres analitikai vizsgálatok értékelésére. *Élelmiszervizsgálati Közlemények*, LIII (4) 222- 238 p.
- DEDE, S., ALPAS, H., BAYINDIRLI, A. (2007): High hydrostatic pressure treatment and storage of carrots and juices: Antioxidant activity and microbial safety. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87 773-872 p.
- DEINHARD, G., BLANZ, P., PORALLA, K., ALTAN, E. (1987): *Bacillus acidoterrestris* sp. Nov., a new thermotolerant acidophilie isolated from different soils. *Systematic and Applied Microbiology*, 10 47-53 p.
- DUNN, J.E., PEARLMAN, J.S. (1987): Methods and apparatus for extending the shelf-life of fluid food products. Maxwell Laboratories, Inc. U.S. Patent 4,695,472

DUNNE, C.P., DUNN, J., CLARK, W., OTT, T., BUSHNELL, A.H. (1996): Application of high energy electric field pulses to preservation of foods for combat rations. Science and Technology for Force XXI. Department of the Army. Norfolk, Virginia

DURÁN, A., MONTSERRAT, C., VELASCO, L., RODRÍGUEZ, J.A., ALEGRET, S., DEL VALLE, M. (2006): Virtual Instrument for an Automated Potentiometric e-Tongue Employing the SIA Technique. *Sensors*, 6 19-29 p.

ELEZ-MARTÍNEZ, P., SUÁREZ-RECIO, M., & MARTÍN-BELLOSO, O. (2007): Modeling the reduction of pectin methyl esterase activity in orange juice by high intensity pulsed electric fields. *Journal of Food Engineering*, 78 184–193 p.

ELGASIM, E.A., KENNICK, W.H. (1980): Effect of pressurization of pre-rigor beef muscles on protein quality, *Journal of Food Science*, 45 1122-4

ESTEVE, M.J., FARRÉ, R., FRIGOLA, A. (1996): Stability of ascorbic acid in orange juices after initial use at home begins. *Journal of Food Quality*, 19, 243-249 p.

EVRENDILEK, G. A., JIN, Z. T., RUHLMAN, K. T., QIN, X., ZHANG, Q. H., & RICHTER, E. R. (2000): Microbial safety and shelf life of apple juice and cider processed by bench and pilot scale PEF systems. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 1 77–86 p.

EVRENDILEK, G.A., STREAKER, C.B., DANTZER, W.R., RATANATRIWONG R., ZHANG Q.H., RICHTER E.R. (2001): Shelf-life evaluations of liquid foods treated by pilot plant pulsed electric field system. *Journal of Food Processing and Preservation*, 25 (4) 283–297 p.

FDA (2004): Guidance for Industry: Juice HACCP Hazards and Controls Guidance First Edition; Final Guidance [online].
<http://www.fda.gov/Food/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/GuidanceDocuments/Juice/ucm072557.htm> [Last accessed on 25/11/2010]

FELLOWS, P.(2000): Food processing technology: principles and practice. *Woodhead Publishing Limited, Cambridge*.

FERNÁNDEZ GARCÍA, A., BUTZ, P., TAUSCHER, B. (2000): Does the antioxidant potential of high pressure treated apple juice change during storage. *High Pressure Research*, 19 543-550 p.

FIALA, A., WOUTERS, P., VAN DEN BOSCH, E., & CREYGHTON, Y. (2001): Coupled electrical-fluid model of pulsed electric field treatment in a model food system. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2 229–238 p.

FINCAN, M., DeVITO, F., DEJMEK, P. (2004): ppulsed electric field treatment for solid-liquid extraction of red beetroot pigment. *Journal of Food Engineering*, 64 381-388 p.

- FRY, J., MARTIN, G.G., LEES, M. (1995): Authentication of orange juice. *Production and Packaging of Non-carbonated Fruit Juices and Fruit Beverages*, 52.
- GARDNER, J.W., BARTLETT, P.N. (1994): A brief history of electronic noses. *Sensors and Actuators B*, 18-19 211-220 p.
- GASKOVA, D., SIGLER, K., JANDEROVA, B., PLASEK, J. (1996): Effect of high-voltage electric pulses on yeast cells: Factors influencing the killing efficiency. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 39, 195-202 p.
- GIANNAKOUROU, M.C., TAOUKIS, P.S. (2003): Kinetic modeling of Vitamin C loss in frozen green vegetables under variable storage conditions. *Food Chemistry*, 83 33-41 p.
- GINER, J., ORTEGA, M., MESEGUÉ, M., GIMENO, V., BARBOSA-CÁNOVAS, G.V., BELLOSO, O. M. (2002): Inactivation of peach polyphenoloxidase by exposure to pulsed electric fields. *Journal of Food Science*, 67 (4) 1467-1472 p.
- GOBBI, E., FALASCONI, M., CONCINA, I., MANTERO, G., BIANCHI, F., MATTAROZZI, M., MUSCI, M., SBERVEGLIERI, G. (2010): Electronic nose and *Alicyclobacillus* spp. spoilage of fruit juices: An emerging diagnostic tool. *Food Control*, 21, 1374-1382 p.
- GÓMEZ, N., GARCÍA, D., ÁLVAREZ, I., CONDÓN, S., & RASO, J. (2005): Modelling inactivation of *Listeria monocytogenes* by pulsed electric fields in media of different pH. *International Journal of Food Microbiology*, 103 199–206.
- GUDERJAN, M., TOEPFL, S., ANGERSBACH, A., KNORR, D. (2005): Impact of pulsed electric field treatment on the recovery and quality of plant oils. *Journal of Food Engineering*, 67 (3) 281-287 p.
- HARRISON, S.L., BARBOSA-CÁNOVAS, G.V., SWANSON, B.G. (1996): Pulsed electric field induced structural changes to *S. cerevisiae*, *IFT Annual Meeting*, New Orleans, Louisiana.
- HARTYÁNI, P., DALMADI, I., CSERHALMI, Z., KÁNTOR, D.-B., TÓTH-MARKUS, M., SASS-KISS, Á. (2011): Physical-chemical and sensory properties of pulsed electric field and high hydrostatic pressure treated citrus juices. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12 (3) 255-260 p.
- HARTYÁNI, P., BÁNÁTI, D., CSERHALMI, ZS. (2007): Kíméletes, új élelmiszeripari eljárások. *Élelmészeti ipar*, 61 (8) 226-232 p.
- HASHIZUME, C., KIMURA, K., HAYASHI, R. (1995): Kinetic analysis of yeast inactivation by high pressure treatment at low temperatures, *Biosci Biotech Biochem*, 59, 1455-8 p.

HEINZ, V., ALVAREZ, I., ANGERSBACH, A., KNORR, D. (2002): Preservation of liquid foods by high intensity pulsed electric fields: Basic concepts for process design, *Trends in Food Science & Technology*, 12 103-111 p.

HEINZ, V. és KNORR, D. (1996): High pressure inactivation kinetics of *Bacillus subtilis* cells by a three-state-model considering distributed resistance mechanisms, *Food Biotechnology*, 10, 149-61 p

HEINZ, V., PHILLIPS, S.T., ZENKER, M., KNORR, D. (1999): Inactivation of bacillus subtilis by high intensity pulsed electric fields under close to isothermal conditions. *Food Biotechnology*, 13 155-168 p.

HEINZ, V., TOEPFL, S. és KNORR, D. (2003): Impact of temperature on lethality and energy efficiency of apple juice pasteurization by pulsed electric fields treatment, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 4 (2) 167-175 p.

HEREMANS, K. (1995): High pressure effects on biomolecules. D. A. Ledward, D. E. Johnston, R. G. Earnshaw and A. P. M. Hasting. *High Pressure Processing of Foods*. Leicestershire, UK. Nottingham University Press.

HITE, B.H. (1899): The effects of pressure in the preservation of milk. Morgantown, West Virginia Agricultural Experiment Station Bulletin, 58 15.p.

HODGINS, D. (1995). The development of an electronic 'nose' for industrial environmental applications, *Sensors and Actuators B*, 26-27 255-258.

HOLMBERG, N., DAVIDE, F.A.M., DI NATALE, C., D'AMICO, A., WINQUIST, F., LUNDSTRÖM, I., DRIFT (1997): Drift counteraction in odour recognition applications: lifelong calibration method. *Sensors and Actuators B*, 42 185-194 p.

HUIS IN'T VELD, J H J (1996): Minimal Processing of foods. potential, challenges and problems. Paper presented to the EFFoST Conference on the Minimal Processing of Food, Cologne, 6-9 November.

HÜLSHEGER, H., NIEMAN, E.G. (1980): Lethal effect of high-voltage pulses on E.coli K12. *Radiation Environment Biophysics*, 20 53-65 p.

HÜLSHEGER, H., POTTEL, J., NIEMANN, E.G. (1981): Killing of bacteria with electric pulses of high field strength. *Radiation Environment Biophysics*, 20 53-65 p.

HÜLSHEGER, H., POTTEL, J., NIEMANN, E.G. (1983): Electric field effects on bacteria and yeast cells. *Radiation Environment Biophysics*, 22 149-162 p.

INDRAWATI, VAN LOEY, A., HENDRICKX, M. (2002): High pressure processing, The nutrition handbook for food processors, Woodhead Publishing Limited , CRC Press, 433-461 p.

- JACOB, H.E., FORSTER, W., BERG, H. (1981): Microbial implications of electric field effects II. Inactivation of yeast cells and repair of their cell envelope. *Z. Allg. Microbial*, 21(3) 225-232 p.
- JAYARAM, S., CASTLE, G.S.P., MARGARITIS, A. (1992): Kinetics of sterilization of *Lactobacillus brevis* cells by the application of high voltage pulses. *Biotechnology, Bioengineering*, 40(11) 1412-1420 p.
- JENSEN, N. and WHITFIELD, F.B. (2003): Role of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in the development of a disinfectant taint in shelf-stable fruit juice. *Letters in Applied Microbiology* 36 9–14.
- JEYAMKONDAN, S., JAYAS, D.S., HOLLEY, R.A. (1999): Pulsed electric field processing of foods: a review. *Journal of Food Protection*, 62(9) 1088-1096 p.
- JIA, M., ZHANG, H. & MIN, D.B. (1998): Optimization of Solid-Phase Microextraction Analysis for Headspace Flavour Compounds of Orange Juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(7) 2744-2747 p.
- JIA, M., ZHANG, H. & MIN, D.B. (1999): Pulsed electric field processing effects on flavour compounds and microorganisms of orange juice. *Food Chemistry*, 6, 445-451
- KALICHEVSKY, M.T., KNORR, D. & LILLFORD, P.J. (1995): Potential food applications of high-pressure effects on ice-water transitions. *Trend sin Food Science & Technology*, 6 (8) 253-259, p.
- KANTOR, D.B., HITKA, G., FEKETE, A., BALLA, CS. (2008). Electronic tongue for sensing taste changes with apricots during storage. *Sensors and Actuators.B*. 131, 43-47
- KARADENİZ, F. (2004): Main organic acid distribution of authentic citrus juices in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 28 267–271 p.
- KERÉNYI, Z. (2008): Aromanyagok, *Élelmiszer-kémia, Szerk.: Hajós Gyöngyi*, 186-214 p.
- KISS, G. (2007): Alkoholmentes italok értékelése 2006-ban. *Ásványvíz, üdítőital, gyümölcsle, alkoholmentes italok*, 8 (1) 4-5. p.
- KNORR, D. (1993): Effects of high-hydrostatic pressure processes on food safety and quality. *Food Technology*, 47 156-161 p.
- KNORR, D. (1995): Hydrostatic pressure treatment of food: microbiology, *New Methods of Food Preservation*, Glasgow, Blackie Academic and Professional, in Gould G W (ed), 159-75 p.
- KONCZ, K. , PÁSZTOR-HUSZÁR, K., DALMADI I. (2007): Nagy hidrosztatikus nyomás élelmiszeripari alkalmazása, *Élelmiszer-biztonság és minőség II. Élelmiszertechnológiák*, Mezőgazda Kiadó, Szerk: Balla Csaba, Síró István 124-134 p.

- KOVACS, Z., DALMADI, I., LUKÁCS, L., SIPOS, L., SZÁNTAI-KÓHEGYI, K., KÓKAI, Z., FEKETE, A. (2009). Geographical origin identification of pure Sri Lanka tea infusions with electronic nose, electronic tongue and sensory profile analysis. *Journal of Chemometrics*, DOI:10.1002/cem.1280
- KREBBERS, B., MATSER, A., KOETS, M., BARTELS, P., VAN DEN BERG, R. (2001): High pressure-temperature processing as an alternative for preserving basil, *Poster Presentation in XXXIX European High Pressure Research Group Meeting*, Santander (Spain)
- LEE, S.Y., DOUGHERTY, R.H. and KANG, D.H. (2002): Inhibitory Effects of High pressure and Heat on *Alicyclobacillus acidoterrestris* Spores in Apple Juice. *Applied Environmental Microbiology*, 68 4158-4161 p.
- LEE, S.Y., CHUNG, H.J., KANG, D.H. (2006): Combined treatment of High Pressure and Heat on Killing Spores of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in Apple Juice Concentrate. *Journal of Food Protection*, 69 1056-1060 p.
- LEE, H. S., & COATES, G. A. (1999): Thermal pasteurization effects on color of red grapefruit juices. *Journal of Food Science*, 64 663–666 p.
- LEE, H. S., & COATES, G. A. (2003): Effect of thermal pasteurization on Valencia orange juice color and pigments. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 36 153–156 p.
- LEE, H. S., & NAGY, S. (1988a): Quality changes and nonenzymic browning intermediates in grapefruit juice during storage. *Journal of Food Science*, 53 168–172 p.
- LEGIN, A., RUDNITSKAYA, A., VLSUV, Y., DI NATALE, C., DAVIDE, F., D'AMICO, A.(1997). Tasting of beverages using an electronic tongue. *Sensors and Actuators, B*. 44, 291-296
- LEGIN, A., RUDNITSKAYA, A., VLSUV, Y., DI NATALE, C., MAZZONE, E., D'AMICO, A.(2000). Application of electronic tongue for quantitative analysis of complex liquid media. *Sensors and Actuators, B*. 65 232-234
- LEGIN, A., RUDNITSKAYA, A., VLSUV, Y., DI NATALE, C., DAVIDE, F., D'AMICO, A.(1997): Tasting of beverages using an electronic tongue. *Sensors and Actuators, B*. 44, 291-296 p.
- LINTON, M., CLEMENTS, M.J. & PATTERSON, M.F. (1999): Inactivation of E. coli O157:H7 in orange juice using a combination of high pressure and mid heat. *Journal of Food Protection*, 62 277–279 p.
- LYNDHURST, B. (2009): An evidence review of public attitudes to emerging food technologies. Social Science Research Unit, Food Standards Agency.

- MANVEL, C.(1996): Oppurtunities and problems of minimal processing and minimally-processed food. Paper presented to the EFFoST Conference on the Minimal Processing of Food, Cologne, 6-9 November.
- MARQUEZ, V.O., MITTAL, G.S., GRIFFITHS, M.W. (1997): Destruction and inhibition of bacterial spores by high voltage pulsed electric field. *Journal of Food Science*, 62(2) 399-401, 409 p.
- MAURICIO-IGLESIAS, M., PEYRON, S., CHALIER, P., GONTARD, N. (2011): Scalping of four aroma compounds by one common (LDPE) and one biosourced (PLA) packaging materials during high pressure treatments. *Journal of Food Engineering*, 102 9-15 p.
- MAZZOTTA, A. S. (2001): Thermal inactivation of stationary-phase and acid-adapted *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella*, and *Listeria monocytogenes* in fruit juices. *Journal of Food Protection*, 64 315–320 p.
- McALLISTER, J.W.(1980): Methods of determining the quality of citrus juice. *Citrus nutrition and quality*, In: Nagy, S., Attaway, J.A. Editors, 291-317 p. , American Chemical Society.
- MCDONALD, C.J., LLOYD, W., VITALE, M.A., PETERSSON, K., INNINGS, F. (2000): Effects of pulsed electric fields on microorganism in orange juice using electric field strenght of 30 and 50 kV/cm. *Journal of Food Science*, 65 984-989 p.
- MENESES, N., JAEGER, H., MORITZ, J., KNORR, D. (2011): Impact of insulator shape, flow rate and electrical parameters on inactivation of *E. coli* using a continuous co-linear PEF system. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12 6–12 p.
- MERMELSTEIN, N.H. (1998) High Pressure Processing Begins. *Food Technology* 52 104-106.
- MERTENS, B.; KNORR, D. (1992): Developments of Nonthermal processes for Food Preservation. *Food Technology*, 46 124-133 p.
- MESSENS, W., VAN CAMP, J. & HUYGHEBAERT, A. (1997). The use of high pressure to modify the functionality of food proteins. *Trends in Food Science & Technology*, 8 (4) 107-112 p.
- MEYER, R.S., COOPER, K.L., KNORR, D., LELIEVELD, H.L.M. (2000): High pressure sterilization of foods. *Food Technology*, 54(11) 67-72 p.
- MIN, S.,JIN, Z.T., MIN, S.K., YEOM, H., ZHANG, Q.H. (2003): Commercial-Scale Pulsed Electric Field Processing of Orange Juice. *Journal of Food Science*, 68 (4) 1265-1271 p.
- MURAKAMI, M., TEDZUKA, H. & YAMAZAKI, K.(1998): Thermal resistance of *A. acidoterrestris* spores in different buffers and pH. *Food Microbiology* ,15 577–582 p.

- NAKAYAMA, A., YANO, Y., KOBAYASHI, S. & ISHIKAWA, M. (1996): Comparison of pressure resistance of spores of six *Bacillus* strains with their heat resistances. *Applied and Environmental Microbiology*, 62 3897–3900 p.
- NIELSEN, H., SONNE, A. M., GRUNERT, K. G., BÁNÁTI, D., POLLÁK-TÓTH, A., LAKNER, Z., OLSEN, N.V., ZONTAR, T.P., PETERMAN, M. (2009): Consumer perception of the use of high-pressure processing and pulsed electric field technologies in food production. *Appetite*, 52(1) 115-126 p.
- ODRIOZOLA-SERRANO, I., SOLIVA-FORTUNY, R., & MARTÍN-BELLOSO, O. (2009): Impact of high-intensity pulsed electric fields variables on vitamin C, anthocyanins and antioxidant capacity of strawberry juice. *LWT - Food Science and Technology*, 42(1) 93–100 p.
- OEY, I. VAN DER PLANCKEN, I., VAN LOEY, A., AND HENDRICKX, M. (2007): Does high pressure processing influence nutritional aspects of plant based food systems?, *Trends in Food Science and Technology*
- OEY, I., VAN LOEY, A., HENDRICKX, M. (2004): Pressure and temperature stability of water-soluble antioxidants in orange and carrot juice: A kinetic study. *European Food Research and Technology*, 219 161-166 p.
- OEY, I., LILLE, M., VAN LOEY, A., & HENDRICKX, M. (2008 a): Effect of high-pressure processing on colour, texture and flavour of fruit- and vegetable-based food products: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 19(6), 320–328.
- OEY, I., VAN DER PLANCKEN, I., VAN LOEY, A., & HENDRICKX, M. (2008 b). Does high pressure processing influence nutritional aspects of plant based food systems? *Trends in Food Science & Technology*, 19(6) 300-308 p.
- OGAWA, H., FUKUHISA, K., FUKUMOTO, H. (1992): Effect of Hydrostatic Pressure on Sterilization and Preservation of Citrus Juice, in Balny C, Hayashi K., Heremans K. and Masson P (eds), *High Pressure and Biotechnology*, 224 269-278 p.
- OHLSSON, T., BENGSTON, N. (2002): Minimal processing of foods with thermal methods. 4-33 p. In: *Minimal processing technologies in the food industry*, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, UK
- OHMORI, T., SHIGEHISA, T., TAJI, S., HAYASHI, R. (1991): Effect of high pressure on the protease activities in meat, *Journal of Biological Chemistry*, 55(2) 357-61
- OLSEN, N.V., GRUNERT, K.G., SONNE, A.M. (2010): Consumer acceptance of high-pressure processing and pulsed-electric field: a review. *Trends in Food Science & Technology* 21 464-472 p.

- ORR, R.V., BEUCHAT, L.R. (2000): Efficacy of disinfectants in killing spores of *Alicyclobacillus acidoterrestris* and performance of media for supporting colony development by survivors. *Journal of Food Protection* 63 1117-1122 p.
- PAOLESSE, R., ALIMELLI, A., MARTINELLI, E., DI NATALE, C., D'AMICO, A., D'EGIDIO, M.G., AURELI, G., RICELLI, A., FANELLI, C. (2006): Detection of fungal contamination of cereal grain samples by an electronic nose. *Sensors and Actuators B*, 119 (2) 425-430 P.
- PARISH, M.E. (1997): High pressure effects on quality of chilled orange juice, in Heremans k (ed), *High Pressure Research in the Biosciences and Biotechnology*, Leuven, Leuven University Press, 443-446 p.
- PATRAS, A., BRUNTON N. P., DA PIEVE, S., and BUTLER, F (2009a). Impact of high pressure processing on antioxidant activity, phenolic, ascorbic acid and anthocyanins of blackberry and strawberry puree. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10(3) 308-313
- PATRAS, A., BRUNTON N. P., DA PIEVE, S., and BUTLER, F., DOWNEY, G. (2009b). Effect of thermal and high pressure processing on antioxidant activity and instrumental colour of tomato and carrot purees. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10(1) 16-22
- PATTERSON, M.F., QUINN, M., SIMPSON, R. & GILMOUR, A. (1995): Sensitivity of vegetative pathogens to high hydrostatic pressure treatment in phosphate-buffered saline and foods. *Journal of Food Protection*, 58 524–529 p.
- PERERA, N., GAMAGE, T. V., WAKELING, L., GAMLATH, G. G. S., & VERSTEEG, C. (2009): Colour and texture of apples high pressure processed in pineapple juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11 39–46 p.
- PERIS, M., ESCUDER-GILABERT, L. (2009): A 21st century technique for food control: Elelctronic noses. *Analytica Chimica Acta*, 638 1-15 p.
- POTHAKAMURY, U.R., VEGA, H., ZHANG, Q.H., BARBOSA-CÁNOVAS, G.V., SWANSON, B.G. (1996): Effect of growth stage and processing temperature ont he inactivation of E.coli by pulsed electric fields. *Journal of Food Protection*, 59(11) 1167-1171 p.
- PRIOR, R.L., CAO, G., MARTIN, A., SOFIC, E., McEWEN, J., O'BRIEN, C. et al (1998): Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46 2686-2693 p.
- QUAGLIA, G.B., GRAVINA, R., PAPERI, R., PAOLETTI, F. (1996): Effect of high pressure treatments on peroxidase activity, ascorbic acid content and texture in green peas. *Lebensmittel-Wissenschaft und – Technologie*, 29 552-555 p.

- QIN, B.L., BARBOSA-CÁNOVAS, G.V., SWANSON, B.G., PEDROW, P.D. (1998): Inactivating microorganisms using a pulsed electric field continuous treatment system, *IEEE Transactions on the Industry Applications*, 34 43-50 p.
- QIN, B. L., ZHANG, Q., BARBOSA-CÁNOVAS, G. V., SWANSON, B. G. and PEDROW, P. D. (1994): Inactivation of microorganisms by pulsed electric fields with different voltage waveforms. *IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation*. 1(6) 1047-1057 p.
- REID, L.M., O'DONNELL, C.P., DOWNEY, G. (2006). Recent technological advances for the determination of food authenticity. *Trends in Food Science and Technology*, 17(7) 344-353 P.
- REYNS, K.M.F.A., SOONTJES, C.C.F., CORNELIS, K., WEEMAES, C.A., HENDRICKX, M.E. és MICHIELS, C.W. (2000): Kinetic analysis and modelling of combined high pressure-temperature inactivation of the yeast *Zygosaccharomyces bailii*, *International Journal of Food Microbiology*, 56 199-210 p.
- RIVAS, A. RODRIGO, D. MARTÍNEZ, A., BARBOSA-CÁNOVAS G.V., RODRIGO M. (2006): Effect of PEF and heat pasteurization on the physical–chemical characteristics of blended orange and carrot juice. *LWT – Food Science and Technology*, 10 1163–1170 p.
- RODRIGO, D., MARTÍNEZ, A., HARTE, F., BARBOSA-CÁNOVAS, G.V., RODRIGO, M. (2000): Study of inactivation of *Lactobacillus plantarum* in orange-carrot juice by means of pulsed electric fields: Comparison of inactivation kinetics models. *Journal of Food Protection*, 63, 256-263 p.
- ROWAN, N.J., MacGREGOR, S.J., ANDERSON, J.G., FOURACRE, R.A., FARISH, O. (2000): Pulsed electric inactivation of diarrhoeagenic *Bacillus cereus* through irreversible electroporation. *Letters in Applied Microbiology*, 31 110-114 p.
- SAJILATA, M.G., SAVITHA, K., SINGHAL, R.S., KANETKAR, V.R. (2007): Scalping of flavors in packaged foods, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 6 (1) 17-35 p.
- SALE, A.J.H. & HAMILTON, W.A. (1967): Effect of high electric fields on microorganisms I. Killing of bacteria and yeast. *Biochimica et Biophysica Acta*, 148 781-788 p.
- SAMPEDRO, F., GEVEKE, D.J., FAN, X., ZHANG, H.Q. (2009): Effect of PEF, HHP and thermal treatment on PME inactivation and volatile compounds concentration of an orange juice–milk based beverage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10 463–469 p.
- SÁNCHEZ-MORENO, C., PLAZA, L., ELEZ-MARTÍNEZ, P., DE ANCOS, B., MARTÍN-BELLOSO, O. & CANO, M.P. (2005): Impact of high pressure and pulsed electric fields on bioactive compounds and antioxidant activity of orange juice in comparison with traditional thermal processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 4403-4409

- SAVAŞ BAHÇECİ, K., ACAR, J. (2007): Determination of guaiacol produced by *Alicyclobacillus acidoterrestris* in apple juice by using HPLC and spectrophotometric methods, and mathematical modelling of guaiacol production. *European Food Research and Technology*, 227 873-878.
- SILVA, F.M., GIBBS, P., VIEIRA, M.C., SILVA, C.L.M. (1999): Thermal inactivation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores under different temperature, soluble solids and pH conditions for the design of fruit processes. *International Journal of Food Microbiology*, 51 95-103 p.
- SINGLETON, V., ROSSI, A.J. (1965): Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16 (3) 144-158. p.
- SMELT, J.P.P.M. (1998): Recent advances in the microbiology of high pressure processing. *Trends in Food Science and Technology*, 9 152–158 p.
- SOLIVA-FORTUNY, R., BALASA, A., KNORR, D., MARTÍN-BELLOSO, O. (2009): Effects of pulsed electric fields on bioactive compounds in food: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 20 544-556 p.
- SONOIKE, K., SETOYAMA, T., KUMA, Y., KOBAYASHI, S. (1992): Effect of pressure and temperature on the death rates of *Lactobacillus casei* and *Escherichia coli*. High Pressure and Biotechnology 224, in Balny C, Hayashi R, Heremans K and Masson P (eds), Montrouge, John Libbey Eurotext, 297-301 p.
- SPANOS, G. A., & WROLSTAD, R. E. (1992): Phenolic of apple, pear and white grape juices and their changes with processing and storage –A review. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 40 1478–1487 p.
- SPLITTSTOESSER D. F., CHUREY J. J. and LEE C. Y. (1994): Growth characteristics of aciduric sporeforming bacilli isolated from fruit juices. *Journal of Food Protection.*, (57) 1080–1083 p.
- SPLITTSTOESSER, D.F., LEE, C.Y. and CHUREY, J.J. (1998): Control of *Alicyclobacillus* in the juice industry. *Dairy Food and Environmental Sanitation* 18 585-587 p.
- TAIWO, K.A., ANGERSBACH, A, KNORR,D. (2002): Influence of high intensity electric field pulses and osmotic dehydration on the rehydration characteristics of apple slices at different temperatures. *Journal of Food Engineering*, 52 185-192 p.
- TING, S. V. (1980): Nutrients and nutrition of citrus fruits. In S. Nagy, & J. A. Attaway (Eds.), *Citrus nutrition and quality*, 3-28 p. Washington, USA: American Chemical Society.
- TOEPFL, S., HEINZ, V., KNORR, D. (2005): Overview of Pulsed Electric Field Processing for Food. *Emerging Technologies for Food Processing. Edited by Da-Wen Sun*. ISBN 0-12-676757-2, 80-97 p.

TOMIC, O., EKLÖV, T., KVAAL, K., HAUGEN, J-E. (2004): Recalibration of a gas-sensor array system related to sensor replacement. *Analytica Chimica Acta* 512 199–206 p.

UEMURA, K. , KOBAYASHI, I., INOUE, T. (2009): Inactivation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in orange juice by high electric field alternating current. *Food Science and Technology Research* , 15 (3) 211-216 p.

VARELA-SANTOS,E., OCHOA-MARTINEZ, A., TABILO-MUNIZAGA, G., REYES J.E., PÉREZ-WON, M., BRIONES-LABARCA, V., MORALES-CASTRO, J. (2012): Effect of high hydrostatic pressure (HHP) processing on physicochemical properties, bioactive compounds and shelf-life of pomegranate juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 13 13–22 p.

VEGA-MERCADO, H., MARTIN-BELLOSO, O., CHANG, F.-J., BARBOSA-CÁNOVAS, G.V., SWANSON, B.G. (1996a): Inactivation of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* suspended in pea soup using pulsed electric fields. *Journal of Food Processing Preservation*, 20(6), 501-510 p.

VEGA-MERCADO, H., POTHAKAMURY, U.R., CHANG, F.-J., BARBOSA-CÁNOVAS, G.V., SWANSON, B.G. (1996b): Inactivation of *Escherichia coli* by combining pH, ionic strength and pulsed electric fields hurdles. *Food Research International*, 29(2) 117-121 p.

VEGA-MERCADO, H., POWERS, J.R., MARTÍN-BELLOSO, O., LUEDECKE, O.L., BARBOSA-CÁNOVAS, G.V., SWANSON, B.G. (1997): Effects of pulsed electric fields on the susceptibility of proteins to proteolysis and inactivation of an extracellular protease from *P. fluorescens* M 3/6, in *Proceeding of the Seventh International Congress on Engineering and Foods*, The Brighton Centre, UK, 13-17 April

VERVOORT, L., VAN DER PLANCKEN I., GRAUWET, T., TIMMERMANS, R.A.H., MASTWIJK, H.C., MATSER, A.M., HENDRICKX, M.E., VAN LOEY, A. (2011): Comparing equivalent thermal, high pressure and pulsed electric field processes for mild pasteurization of orange juice Part II: Impact on specific chemical and biochemical quality parameters. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12 466–477 p.

WISSE, C.A. and PARISH, M.E. (1998): Isolation and enumeration of sporeforming thermoacidophilic, rod-shaped bacteria from citrus processing environments. *Dairy Food and Environmental Sanitation*, 18 504-509 p.

WOUTERS, P.C., ALVAREZ, I., RASO, J. (2001): Critical factors determining inactivation kinetics by pulsed electric field food processing. *Trends in Food Science & Technology*, 12 112-121 p.

WOUTERS, P.C., DUTREUX, N., SMELT, J.P.P.M. & LELIEVELD, H.L.M. (1999): Effects of pulsed electric fields on inactivation kinetics of *Listeria innocua*. *Applied Environmental Microbiology*, 65 5364-5371 p.

- WUYTACK, E.J., , DIELS, A.M.J., MICHIELS, C.W. (2002): Bacterial inactivation by high-pressure homogenisation and high hydrostatic pressure. *International Journal of Food Microbiology*, 77 205-212 p.
- YAMAGUCHI, T., TAKAMURA, H., MATOBA, T., TERAOKA, J.(1998): HPLC method for evaluation of free radical scavenging activity of foods by using 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 62 (6) 1201-1204 p.
- YAMAZAKI, K., MUKARAMI, M., KAWAI, Y., INOUE, N., MATSUDA, T. (2000): Use of nisin for inhibition of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in acidic drinks. *Food Microbiology* 17 315-320 p.
- YAMAZAKI, K., TEDUKA, H. and SHINANO, H. (1996). Isolation and identification of *Alicyclobacillus acidoterrestris* from acidic beverages. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 60, 543-545.
- YEN, G.C., LIN, H.T. (1996): Comparison of high pressure treatment and thermal pasteurization on the quality and shelf life of guava puree. *International Journal of Food Science and Technology*, 31 205-213 p.
- YEOM, H.W., STRECKER, C.B., ZHANG, Q.H (2000a): Effects of pulsed electric fields on the activity of microorganisms and pectin methyl esterase in orange juice. *Journal of Food Science*, 65 (8) 1359-1363 p.
- YEOM, H.W., STRECKER, C.B., ZHANG, Q.H., MIN, D.B. (2000b): Effects of pulsed electric fields on the quality of orange juice and comparison with heat pasteurization. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48, 4597-4605 p.
- ZHANG, Q., BARBOSA-CANOVAS, G., & SWANSON, B. (1995): Engineering aspects of pulsed electric field pasteurization. *Journal of Food Engineering*, 25 261–281 p.
- ZHANG, Q. H., MONSALVE-GONZALEZ, A., BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. and SWANSON, B. G. (1994): Inactivation of *E. coli* and *S. cerevisiae* by pulsed electric fields under controlled temperature conditions. *Transactions of the ASAE*. 37(2) 581-587 p.
- ZIMMERMANN, U (1986): The effect of high-intensity electric field pulses on eucaryotic cell membranes: fundamentals and applications. In: Zimmermann, U., Neil, G.A. (Eds.), *Electromanipulation of Cells*. CRC Press, Boca Raton

További mellékletek:

M2. Melléklet A citruslevelek PEF és HHP kezelése után mért egyes színkomponensek eredményei

Minta jellege	Kezelés	Színparaméterek		
		L*	a* (-)	b*
Narancs	kontroll	65,01±0,05	0,42±0,05	11,03±0,05
	PEF-kezelt	69,75±5,01	0,99±0,39	10,43±3,09
	HHP-kezelt	55,93±2,26	0,49±0,04	13,25±1,23
Grépfrút	kontroll	66,81±5,13	0,78±0,18	7,69±0,55
	PEF-kezelt	64,37±3,86	0,73±0,08	9,09±0,37
	HHP-kezelt	65,59±1,26	0,79±0,06	5,95±1,37
Mandarin	kontroll	62,62±1,21	1,05±0,05	15,54±0,27
	PEF-kezelt	65,05±4,21	1,56±0,15	12,52±1,27
	HHP-kezelt	64,80±3,01	0,91±0,12	12,30±0,59

M3. Melléklet *Alicyclobacillus acidoterrestris* mikroorganizmussal beoltott narancslé fiziko-kémiai paraméterei HHP kezelés esetén a tárolási idő előrehaladtával

Minta jellege	Tárolási idő(nap)	Kezelés	°Brix (%)	pH	Színínger különbség (ΔE)
	0	Control	10,66±0,0577	3,77±0,0057	Referencia
Narancslé	0	200 MPa	10,76±0,0577	3,74±0,0057	nem észrevehető 0,15±0,08
20 °C	0	400 MPa	10,7±0	3,73±0,0057	nem észrevehető 0,09±0,05
	0	600 MPa	11,1±0	3,76±0,0057	nem észrevehető 0,29±0,03
	14	Control	10,73±0,0566	3,72±0,005	Referencia
Narancslé	14	200 MPa	10,86±0,057	3,71±0,005	nem észrevehető 0,118±0,025
20 °C	14	400 MPa	10,9±0,545	3,70±0,007	nem észrevehető 0,12±0,035
	14	600 MPa	10,86±0,057	3,71±0,006	alig észrevehető 0,52±0,055
	28	Control	10,76±0,057	3,77±0,0208	Referencia
Narancslé	28	200 MPa	11,23±0,115	3,79±0,03	nem észrevehető 0,11±0,05
20 °C	28	400 MPa	11,56±0,057	3,79±0,01	nem észrevehető 0,26±0,05
	28	600 MPa	12,3±0,150	3,81±0,01	nem észrevehető 0,28±0,05
	0	Control	10,67±0,05	3,76±0,05	Referencia
Narancslé	0	200 MPa	11,00±0,01	3,75±0,01	alig észrevehető 0,95±0,03
50 °C	0	400 MPa	10,93±0,15	3,75±0,05	nem észrevehető 0,37±0,01
	0	600 MPa	11,06±0,058	3,75±0,05	alig észrevehető 0,51±0,01
	14	Control	10,6±0,05	3,73±0,01	Referencia
Narancslé	14	200 MPa	10,96±0,0577	3,74±0,005	nem észrevehető 0,18±0,001
50 °C	14	400 MPa	10,76±0,0577	3,72±0,005	nem észrevehető 0,500±0,01
	14	600 MPa	10,73±0,0577	3,73±0,005	alig észrevehető 0,63±0,01
	28	Control	10,60±0,05	3,8±0,01	Referencia
Narancslé	28	200 MPa	10,73±0,05	3,78±0,005	nem észrevehető 0,27±0,01
50 °C	28	400 MPa	10,77±0,05	3,77±0,005	alig észrevehető 0,79±0,02
	28	600 MPa	10,66±0,05	3,77±0,010	alig észrevehető 0,78±0,01
	0	Control	10,60±0,05	3,70±0,05	Referencia
Narancslé	0	200 MPa	10,83±0,057	3,70±0,005	alig észrevehető 0,60±0,02
60 °C	0	400 MPa	10,67±0,115	3,73±0,005	nem észrevehető 0,21±0,01
	0	600 MPa	10,73±0,057	3,72±0,011	alig észrevehető 1,49±0,05
	14	Control	10,56±0,057	3,68±0,011	Referencia
Narancslé	14	200 MPa	11,1±0,100	3,69±0,005	nem észrevehető 0,23±0,01
60 °C	14	400 MPa	10,66±0,057	3,68±0,005	alig észrevehető 0,51±0,02
	14	600 MPa	10,67±0,057	3,67±0,005	alig észrevehető 1,28±0,01
	14	Control	10,70±0,05	3,79±0,005	Referencia
Narancslé	14	200 MPa	10,7±0,100	3,78±0,005	alig észrevehető 0,75±0,05
60 °C	14	400 MPa	10,76±0,05	3,77±0,005	alig észrevehető 1,21±0,05
	14	600 MPa	10,66±0,05	3,77±0,005	észrevehető 1,53±0,05

M4. Melléklet Illékony aromakomponensek számszerűsített adatai kontroll, PEF és HHP kezelt gyümölcslevek (narancs, grépfrút, mandarin) esetében.

	Fő aromakomponensek	Relatív csúcsterület		
		Kontroll	HHP	PEF
Narancs	etil-butirát	10,1±1,5 ^a	8,9±1,5 ^a	9,3±1,1 ^a
	béta-mircén	29,6±3,3 ^a	19,9±4,3 ^b	34,4±3,7 ^a
	linalol	26,2±8,9 ^a	21,7±5,0 ^a	25,1±4,6 ^a
	dekanal	16,5±5,5 ^a	9,7±1,7 ^a	9,1±2,6 ^b
	b-elemén	12,5±3,5 ^a	11,0±2,6 ^a	17,2±8,3 ^a
	gamma-szelinén	10,8±3,4 ^a	13,9±4,0 ^a	13,2±1,0 ^a
	notkaton	19,7±5,7 ^a	13,6±2,9 ^a	16,9±0,01 ^a
	limonén	1999±194 ^a	1632±265 ^a	2434±171 ^b
	valencén	229±23 ^a	269±70 ^a	242±9 ^a
Grépfrút	hexanal	2,8±0,2 ^a	2,5±0,2 ^a	2,2±0,6 ^a
	nonanal	5,6±2,5 ^a	5,3±1,6 ^a	5,4±1,7 ^a
	etil-oktanoát	4,6±0,9 ^a	0,8±0,7 ^b	3,7±1,1 ^a
	dekanal	3,3±0,4 ^a	2,0±0,5 ^a	3,1±1,4 ^a
Mandarin	etil-oktanoát	3,1±1,2 ^a	1,7±0,1 ^a	3,3±0,7 ^a
	etil-nonanoát	3,7±1,0 ^a	2,5±0,7 ^a	4,2±1,1 ^a
	etil-dekanoát	6,1±1,7 ^a	4,3±2,7 ^a	6,2±2,5 ^a

M5. Melléklet PEF kezelt gyümölcslevek elektronikus orr szenzor-jelválaszainak értékelése PCA módszerrel, a gyümölcslé típusa alapján történő elválasztás esetén

Classification Results^{b,c}

			Predicted Group Membership		Total
			almalé	narancslé	
Original	Count	almalé	288	0	288
		narancslé	0	288	288
	%	almalé	100.0	.0	100.0
		narancslé	.0	100.0	100.0
Cross-validated ^a	Count	almalé	287	1	288
		narancslé	0	288	288
	%	almalé	99.7	.3	100.0
		narancslé	.0	100.0	100.0

a. Cross validation is done only for those cases in the analysis. In cross validation, each case is classified by the functions derived from all cases other than that case.

b. 100.0% of original grouped cases correctly classified.

c. 99.8% of cross-validated grouped cases correctly classified.

Eigenvalues

Function	Eigenvalue	% of Variance	Cumulative %	Canonical Correlation
1	15.033 ^a	100.0	100.0	.968

a. First 1 canonical discriminant functions were used in the analysis.

Wilks' Lambda

Test of Function(s)	Wilks' Lambda	Chi-square	df	Sig.
1	.062	1560.743	23	.000

M6. Melléklet PEF kezelt gyümölcslevek elektronikus orr szenzor jelválaszainak értékelése CDA módszerrel az adatok kezelési hőmérséklet szerinti csoportosítása esetén

Classification Results^{b,c}

			Predicted Group Membership				Total
			20C	50C	65C	80C	
Original	Count	KOD					
		HOM					
		20C	111	2	9	22	144
		50C	10	100	29	5	144
	%	65C	29	34	64	17	144
		80C	23	5	11	105	144
		20C	77.1	1.4	6.3	15.3	100.0
		50C	6.9	69.4	20.1	3.5	100.0
Cross-validated ^a	Count	65C	20.1	23.6	44.4	11.8	100.0
		80C	16.0	3.5	7.6	72.9	100.0
		20C	100	4	12	28	144
		50C	11	96	30	7	144
	%	65C	33	38	56	17	144
		80C	25	5	13	101	144
		20C	69.4	2.8	8.3	19.4	100.0
		50C	7.6	66.7	20.8	4.9	100.0
		65C	22.9	26.4	38.9	11.8	100.0
		80C	17.4	3.5	9.0	70.1	100.0

a. Cross validation is done only for those cases in the analysis. In cross validation, each case is classified by the functions derived from all cases other than that case.

b. 66.0% of original grouped cases correctly classified.

c. 61.3% of cross-validated grouped cases correctly classified.

Eigenvalues

Function	Eigenvalue	% of Variance	Cumulative %	Canonical Correlation
1	1.142 ^a	62.8	62.8	.730
2	.484 ^a	26.6	89.4	.571
3	.193 ^a	10.6	100.0	.402

a. First 3 canonical discriminant functions were used in the analysis.

Wilks' Lambda

Test of Function(s)	Wilks' Lambda	Chi-square	df	Sig.
1 through 3	.264	748.146	69	.000
2 through 3	.565	320.532	44	.000
3	.839	98.871	21	.000

M7. Melléklet PEF kezelt gyümölcslevek elektronikus orr szenzor jelválaszainak értékelése CDA módszerrel az adatok tárolási idő szerinti csoportosítása esetén

Classification Results^{b,c}

		KOD TAR	Predicted Group Membership			Total
			0nap	14nap	28nap	
Original	Count	0nap	155	37	0	192
		14nap	32	129	31	192
		28nap	8	18	166	192
	%	0nap	80.7	19.3	.0	100.0
		14nap	16.7	67.2	16.1	100.0
		28nap	4.2	9.4	86.5	100.0
Cross-validated ^a	Count	0nap	152	40	0	192
		14nap	35	122	35	192
		28nap	9	20	163	192
	%	0nap	79.2	20.8	.0	100.0
		14nap	18.2	63.5	18.2	100.0
		28nap	4.7	10.4	84.9	100.0

a. Cross validation is done only for those cases in the analysis. In cross validation, each case is classified by the functions derived from all cases other than that case.

b. 78.1% of original grouped cases correctly classified.

c. 75.9% of cross-validated grouped cases correctly classified.

Eigenvalues

Function	Eigenvalue	% of Variance	Cumulative %	Canonical Correlation
1	1.951 ^a	83.4	83.4	.813
2	.387 ^a	16.6	100.0	.528

a. First 2 canonical discriminant functions were used in the analysis.

Wilks' Lambda

Test of Function(s)	Wilks' Lambda	Chi-square	df	Sig.
1 through 2	.244	791.994	46	.000
2	.721	183.924	22	.000

M8. Melléklet PEF kezelt gyümölcslevek elektronikus orr szenzor jelválaszainak értékelése CDA módszerrel az adatok különböző térerő intenzitás szerinti csoportosítása esetén

Classification Results^{b,c}

			Predicted Group Membership				Total
			kis térerő	kontroll	közepes_térerő	nagy térerő	
Original	Count	kis_térerő	78	9	23	34	144
		kontroll	29	63	27	25	144
		közepes_térerő	28	9	84	23	144
		nagy_térerő	42	4	25	73	144
	%	kis_térerő	54.2	6.3	16.0	23.6	100.0
		kontroll	20.1	43.8	18.8	17.4	100.0
		közepes_térerő	19.4	6.3	58.3	16.0	100.0
		nagy_térerő	29.2	2.8	17.4	50.7	100.0
Cross-validated ^a	Count	kis_térerő	69	10	26	39	144
		kontroll	28	61	28	27	144
		közepes_térerő	32	12	71	29	144
		nagy_térerő	48	6	30	60	144
	%	kis_térerő	47.9	6.9	18.1	27.1	100.0
		kontroll	19.4	42.4	19.4	18.8	100.0
		közepes_térerő	22.2	8.3	49.3	20.1	100.0
		nagy_térerő	33.3	4.2	20.8	41.7	100.0

a. Cross validation is done only for those cases in the analysis. In cross validation, each case is classified by the functions derived from all cases other than that case.

b. 51.7% of original grouped cases correctly classified.

c. 45.3% of cross-validated grouped cases correctly classified.

Eigenvalues

Function	Eigenvalue	% of Variance	Cumulative %	Canonical Correlation
1	.409 ^a	64.6	64.6	.539
2	.177 ^a	28.0	92.7	.388
3	.047 ^a	7.3	100.0	.211

a. First 3 canonical discriminant functions were used in the analysis.

Wilks' Lambda

Test of Function(s)	Wilks' Lambda	Chi-square	df	Sig.
1 through 3	.576	309.770	69	.000
2 through 3	.812	117.241	44	.000
3	.956	25.522	21	.225

KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

Köszönetemet fejezem ki:

Dr. Cserhalmi Zsuzsanna, témavezetőmnek, a doktori tanulmányaim során nyújtott segítségéért, szakmai útmutatásaiért, támogatásáért, tanácsaiért.

Dr. Bánáti Diánának, hogy biztosította a feltételeket, hogy a Központi Élelmiszer-tudományi Kutatóintézetben végezzhessem a Ph.D. tanulmányaimat.

Dr. Dalmadi Istvánnak kiemelt, hálás köszönetemet fejezem ki a rengeteg szakmai tanácsáért, a nagy hidrosztatikai nyomású kezelésekben-, elektronikus orr mérésekben-, és a matematikai-statisztikai módszerek alkalmazásában nyújtott segítségéért. Köszönöm, hogy mindezen technikákról tanulhattam tőle és hogy mindvégig lelkesen támogatott.

dr. Kardos Györgynének, a szakmai útmutatásokért, tanácsaiért, az összefoglaló tartalom és gyökfógo képeesség mérésekben nyújtott segítségéért.

Tóthné Dr. Markus Mariannának és Sassné Dr. Kiss Ágnesnek az illékony aromakomponens vizsgálatok és szerves savak mérésében nyújtott segítségükért.

Kántor Dávid Balázsnak és Kovács Zoltánnak az elektronikus nyelv mérésekben nyújtott segítségükért.

Prof. Dietrich Knorr-nak, hogy a DAAD ösztöndíj keretében kutatásokat végezhettem a Berliini Műszaki Egyetem, Élelmiszerbiotechnológiai és - folyamattervezési Tanszék laboratóriumában.

Dr. Halász Annának és Dr. Fekete Andrásnak a műhelyvitán való opponensi tevékenységükért, javaslaaikért.

Köszönöm **SZÜLEIM** mindvégig tartó önzetlen támogatását és ösztönzését a Ph.D. fokozat megszerzéséhez vezető úton.