

# **Analitikai technikák az élelmiszerek mikrobás szennyezettségének gyors vizsgálatára\***

*Farkas József<sup>1,2</sup> és Mohácsiné Farkas Csilla<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Központi Élelmiszer-tudományi Kutató Intézet

<sup>2</sup>Budapesti Corvinus Egyetem Élelmiszer-tudományi Kara

Korunkban az élelmiszerek mikrobás szennyezettségével kapcsolatos gondok és védekezési feladatok növekednek. Ennek számos oka van, pl.:

- az élelmiszer-kereskedelem globalizálódása (bonyolult és hosszú élelmiszer-lánc);
- fokozódó urbanizáció és népesség sűrűség, a fogyasztók életvitelének változása;
- nagy nemzetközi személyforgalom;
- intenzív, tömeges növénytermesztési és állattartási gyakorlat;
- fokozódó környezet-szennyeződés, megváltozott mikroorganizmusok, megváltozott nyersanyagok.

A klímaváltozással (melegedéssel) további problémák jelentkezésére is számíthatunk, pl.:

- rövidebb „post harvest” tárolhatóság;
- a hűtlánc fenntartása megnehezül;
- fokozott rovarkártétel;
- fokozott mikrobás szennyezettség és mikotoxin veszély.

Az élelmiszerek mikrobiológiai minőségének biztosítása, az élelmiszerek mikrobiológiai biztonságát rontó tényezők és kockázatok kezelésének érdekében bevezetett HACCP rendszerek helyes működésének validálására, valamint különösen az élelmiszer-kereskedelem ellenőrzésére és a kockázatbecslési feladatokhoz a mikrobiológiai vizsgálatok sem nélkülözhetők. Gondot jelent azonban, hogy a hagyományos vizsgálati módszerek, amelyek szükségszerűen a mikroorganizmusok szemmel látható telepeinek vagy folyadéktenyészeteknek megjelenéséig tenyésztik az élelmiszermintában lévő mikrobákat, igen hosszadalmasak és munkaigényesek, a mikrobás állapotot csak retrospektíven tudják jellemezni és viszonylag kevés minta vizsgálatát teszik lehetővé. Igény van tehát arra, hogy sok mintát és egyenként rövid idő, néhány óra, sőt lehetőség szerint „real time” időtartam alatt lehessen időbeni beavatkozás érdekében megvizsgálni.

---

\* A Magyar Kémikusok Egyesülete Centenárium Vegyészkonferenciáján, Sopronban, 2007. május 30-án tartott előadás kézírata alapján.

Ehhez nyújthatnak segítséget az élelmiszer-analítika egyes, a fizikai sajátságok, fiziko-kémiai vagy biokémiai változások mérésére alkalmas, esetleg automatizálható, műszeres módszerei (Farkas, 1998, 2004; Fung, 2002), ha előzetes kutatómunkával a hagyományos, referencia módszerekkel a kalibrációjuk megvalósul. Jelen áttekintésben – a teljesség igénye nélkül – példákat vázolunk fel ilyen, már bevált vagy ígéretes technikákra, amelyek az „összes” szennyező mikroba koncentrációjának vagy specifikus mikroorganizmusoknak a szelektív kimutatására, meghatározására alkalmassá tehetők. Nagy segítséget jelenthetnek ezen technikák a mikroba-szaporodási vagy -pusztulási dinamika jellemzéséhez, a „prediktív” mikrobiológiai modellek megalkotásához szükséges nagyszámú vizsgálatkor, tehát a mikrobiológiai ökológiai összefüggések kvantifikálásához is.

Ebben az áttekintésben nem célunk azon DNS hibridizációs és amplifikációs, molekuláris mikrobiológiai módszerek bemutatása, amelyek az élelmiszer-mikrobiológiában is egyre nagyobb figyelmet kapnak és sokirányú alkalmazást nyernek. A tárgyalandó módszerek esetén viszont arra törekszünk, hogy egyes hazai kutatási eredményekre is rámutassunk.

## **Elektrometriás módszerek**

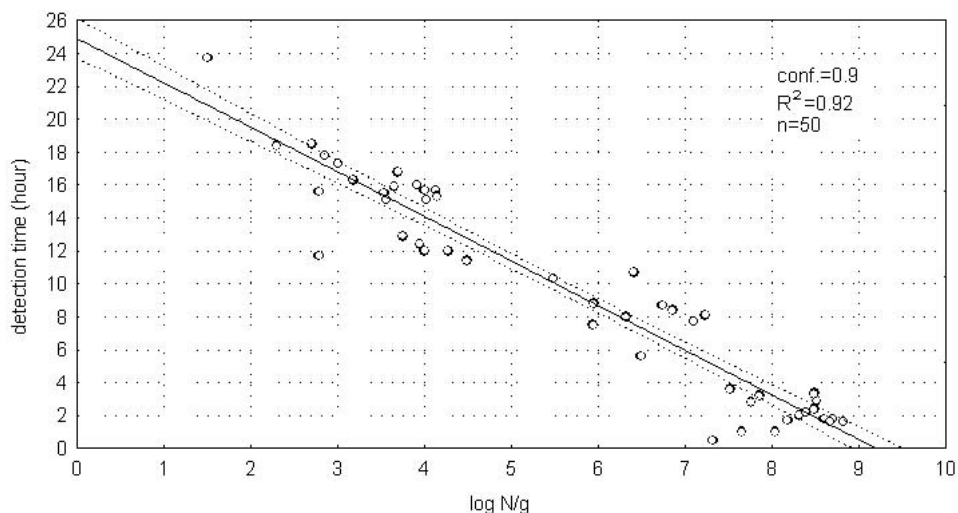
Az elektrometriás módszerek közül a mikrobás aktivitásnak az impedancia/konduktancia/kapacitancia mérésén alapuló technikákat több országban már az 1980-as évektől kezdve rutinszerűen alkalmazták az élelmiszeriparban. Ennek következtében többféle – kereskedelmi forgalomban is lévő – ilyen műszer típus van, amelyekkel egyidejűleg nagyszámú minta automatikusan elemezhető. Ezek a műszerek azt a „detekciós időtartamot” állapítják meg, amelynél a megfelelő folyékony tápközegbe oltott mintában lévő mikroorganizmusok állandó hőmérsékleten végzett inkubáció során szaporodásuk és anyagcseréjük közben képződő, elektromosan töltött kismolekulájú anyagok koncentrációjának növekedése révén a tenyészetbe merülő elektródok impedancia, konduktancia vagy kapacitancia változást jeleznek. A detekciós időtartam fordítottan arányos a minta kezdeti mikroba-koncentrációjával és rendszerint jóval rövidebb, mint a hagyományos tenyésztéses technikák időszükséglete (Deák és Beuchat, 1993; Rule, 1997; Mohácsi-Farkas et al., 1999a).

Egy, a közelmúltban, ún. Malthus típusú konduktiméter rendszerrel végzett hazai vizsgálatok (Horváth et al., 2007a) során, sertéshús aerob tárolása közben, a *Pseudomonas* nemzetségbe tartozó, specifikus romlási mikrobiotát jelentő baktériumok élőcsíraszama és a konduktimetriás detekciós idő között megállapított kapcsolatot mutatja az 1.ábra.

Pseudomonas count and impedimetric detection time (calibration curve)

pork meat F1442-46, Petri dish

$$y=24,9-2,705^*x+eps$$



**1.ábra: Összefüggés hűtve tárolt szeletelt sertéshús pszeudomonasz szennyezettsége és Malthus készülékkel mért konduktimétriai detekciós időtartamok között (Horváth et al., 2007a)**

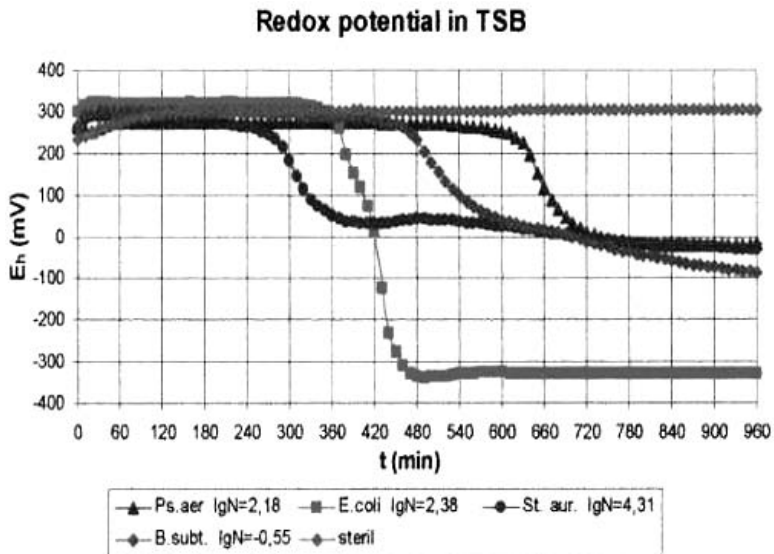
Az impedimetriás technika a kutatásban is jól bevált, pl. antimikrobás anyagok hatékonyságának gyors összehasonlítására (Mohácsi-Farkas et al., 1999b).

Új, magyar kezdeményezés a redox-potenciál változásának mérésén alapuló, MicroTester-nek elnevezett mérőrendszer (Reichart et al., 2007), amely a konduktimétriai módszernél érzékenyebben és az inkubációs hőmérséklet ingadozására kevésbé érzékeny, kisebb beruházási költségű berendezéssel és kisebb élőcsíraszám-szintig is mérni képes módon végzi a detekciós idő meghatározását. MicroTester-rel regisztrált redox-potenciál változásokat mutat különböző baktériumok esetén a 2. ábra.

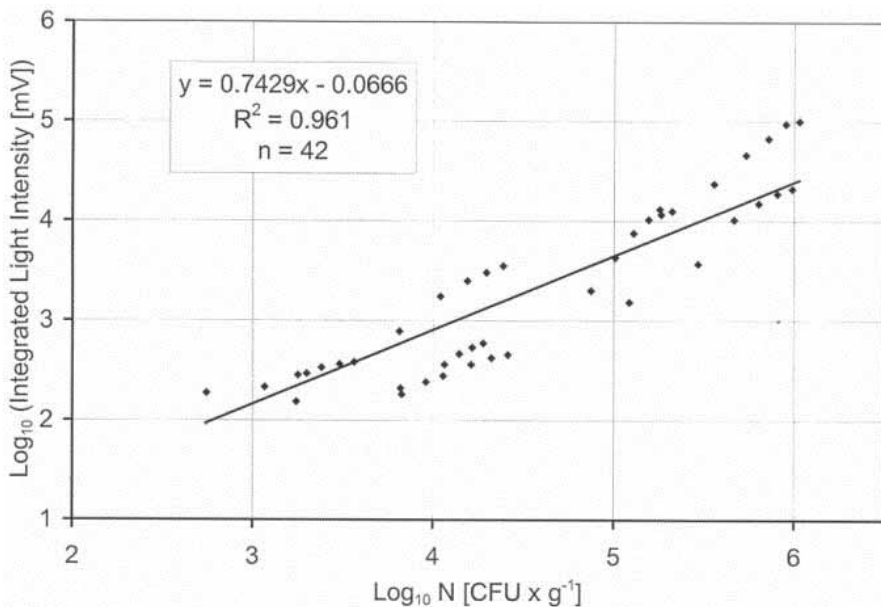
## **Biolumineszcenciás és fluoreszcenciás módszerek**

A szomatikus- és a mikrobacejtek ATP tartalmának fénykibocsátással járó mérése a luciferin-luciferáz reagensekkel végbemenő oxidációs reakció révén, a módszer kivitelezésétől függő módon felületek általános higiénés állapotának és mikrobás szennyezettségének luminometriás, igen gyors vizsgálatára egyaránt alkalmas (Siro, 1985; Nógrádi, 1996). Ilyen mérésekhez kutatóműszerek és hordozható, kézi műszerek egyaránt vannak kereskedelmi forgalomban (Griffiths, 1996). Élelmiszerek élőcsíraszámának ilyen, ATP luminometrián alapuló meghatározására is számos

példa van (pl. Werlein, 1996; Kiss et al., 1996). Egy hazai, vágott baromfi vizsgálatokkal kapcsolatos ATP-luminometriás kalibrációt mutat a 3. ábra.



**2.ábra: Néhány baktérium TSB tápközegben végzett tenyésztésénél MicroTester készülékkel mért redox-potenciál változás (Reichart et al., 2007)**



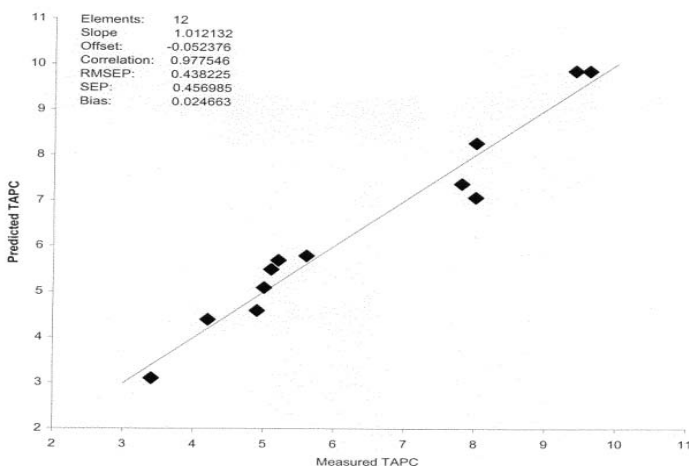
**3. ábra: Vágott baromfi bőrfelületén mért baktériumos élőcsíraszám és az ATP-biolumineszcenciás reakció fényintenzitása közötti kapcsolat (Kiss et al., 1996)**

A luciferáz enzim szintézisére képes, lux gént tartalmazó biolumineszcens tesztorganizmusok (Stewart et al., 1997) és fluoreszkáló fehérjét (GFP) tartalmazó, rekombináns baktériumok élelmiszer-mikrobiológiai kutatásban való alkalmazási lehetőségeit és azok korlátait illetően e helyütt csupán korábbi közleményeinkre utalunk (Farkas et al., 2002; Farkas és Mohácsiné, 2003).

## Spektroszkópai módszerek

Spektroszkópai módszerek (pl. közeli infravörös vagy spektrofluorimetriás eljárások) alkalmazása is ígéretes az utóbbi évek szerinti, tárgyunkba vágó közlések alapján, rendszerint a hatalmas adattömegük multivariáns kemometriai feldolgozásával végzett kalibrációk alapján. Különösen előnyös, hogy ezek a módszerek gyakran roncsolásmentesek és nem igényelnek reagenseket sem.

A NIR vizsgálatok köréből példaként említhető halfilé romlásának NIR-spektroszkópos módszerrel való észlelése (Lin et al., 2006). Szeletelt sertéshússal végzett hasonló vizsgálatok biztató kezdeti eredményei (Horváth et al., 2007b) közlés alatt vannak. E vizsgálatokból mutat illusztrációt az a parciális legkisebb négyzetek (PLS) kalibráció (4. ábra), amely a hűtve tárolt sertéshús felületi aerob összes élőcsíraszámának becslési lehetőségét mutatja a NIR spektrum hús tárolása során bekövetkezett változásainak kemometriás elemzése alapján.



**4.ábra: Szeletelt, hűtve tárolt sertéshús aerob összes élőcsíraszámának előrejelzése a hússzeletek közeli infravörös reflexiós spektrumai alapján készült PLS modellel (Horváth et al., 2007b)**

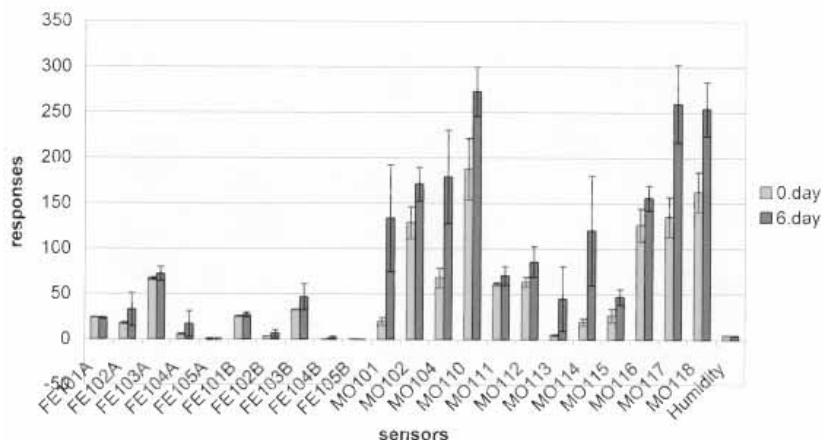
A spektrofлуорimetria érdekes alkalmazási lehetőségét ígériк amerikai vizsgálatok (Kim et al., 2003), amelyek szerint vágóállatok húsának fekális szennyezettsége kimutatható a bélsárban lévő klorifill A és anyagcsere-termékeinek megfelelő gerjesztési hullámhossz-tartománnyal való megvilágítása után mérhető jellegzetes emissziós spektruma alapján.

## **Elektronikus orr**

Az utóbbi években nagy K+F aktivitás mutatkozik kémiai szenzorok gázérzékelő, „mesterséges szaglószerként”, elektronikus orrként való használatára (Kaffka és Farkas, 1999; Chantarachoti et al., 2006; Siripatrawan et al., 2006). Az előzőkben említett NIR vizsgálatokkal párhuzamosan különböző hűtő-hőmérsékleteken tartott, szeletelt sertéshús bakteriológiai romlásának detektálására is folytak vizsgálatok (Horváth et al., 2007c). Egy nagyszámú szenzor sorozatát tartalmazó műszernek a húsminták csomagolásának légteréből vett mintákból kapott szenzor-jelválaszok változását mutatja az 5. ábra a friss és a 6 napig 4 °C-on tárolt mintákat összehasonlítva. Az ábra jól mutatja különböző szenzorok eltérő érzékenységét a baktérium-szaporodással összefüggő komplex illóanyag-képződés érzékelésére, ami alapján perspektivikusan lehetségesnek látszik csupán néhány kiválasztott, az adott célra alkalmas érzékelőket tartalmazó „kéziműszer” kifejlesztése. Az elektronikus orr szolgáltatja adatoknak főkomponens analízisét követően végzett diszkriminációs analízise eredményét szemlélteti a 6. ábra a tárolási idők, illetve a baktérium-szaporodást jelző logaritmikus élőcsíraszám-értékek függvényében. A vizsgálatokból az a következtetés volt levonható, hogy az elektronikus orr használatával is lehetségessé válhat a bakteriológiai minőség romlásának a detektálása, egyidőben vagy akár korábban is, mint az érzékszervileg észlelhető romlás.

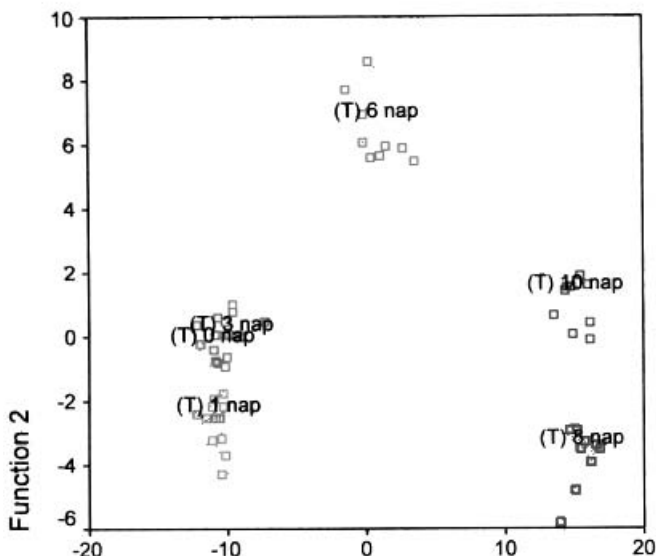
## **Bioszenzorok, nanotechnológia**

Rohamos a fejlődés az élelmiszerek minőségvizsgálatára alkalmas, különféle mechanizmusok szerint működő (elektrokémiai, optikai, immunológiai stb.) bioszenzorok kidolgozása terén, aminek különös lendületet adhat a nanotechnológia „forradalma”. Szaporodnak olyan közlemények is, amelyek mikrobák, mikroba-toxinok és más mikroba-anyagcsere termékek (pl. biogén aminok) kimutatási lehetőségét ígériк, esetenként ún. „intelligens csomagolásba” is beépítve, vagy fogyasztói „dipstick” tesztek alkalmazására is gondolva (Anon., 2007).



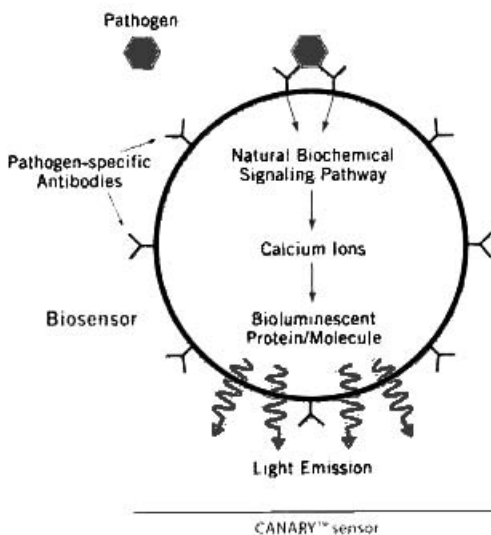
**5.ábra: Friss és 6 napig 4 °C hőmérsékleten tárolt sertéshús-szeletek csomagolásának légtéréből vett gázmintákkal kapott szenzor jelválaszok az „elektronikus orr” szenzorjainak mibenlététől függően (Horváth et al., 2007c)**

### Canonical Discriminant Functions



**6. ábra: 4 °C hőmérsékleten tárolt sertéshús szeletek illóanyag-összetételének kanonikus diszkrimináns analízissel végzett elkülönítése elektronikus orr szenzor válaszainak értékelése alapján, a tárolási időtartam és a húsminták aerob összes élőcsíraszámának logaritmikus értékei függvényében (Horváth et al., 2007c)**

A patogén-specifikus immunszenzorok érdekes példája az ún. CANARY™ bioszenzor (Griffiths, 2007), amelynek a működési elvét a 7. ábra mutatja. E szenzor olyan – az aequorin fluoreszcens fehérjét tartalmazó – rekombináns makrofág sejteket hordoz, amelyeknek a felületén az E. coli O157:H7 patogénra specifikus antitestek vannak, s annak sejtjeit megkötvé bizonyos reakció eredményeként kiváltják az immunszenzor fluoreszcenciáját.



**7. ábra: CANARY™ immuno-szenzor működési mechanizmusa E. coli O157:H7 sejtek kimutatásakor (Griffiths, 2007)**

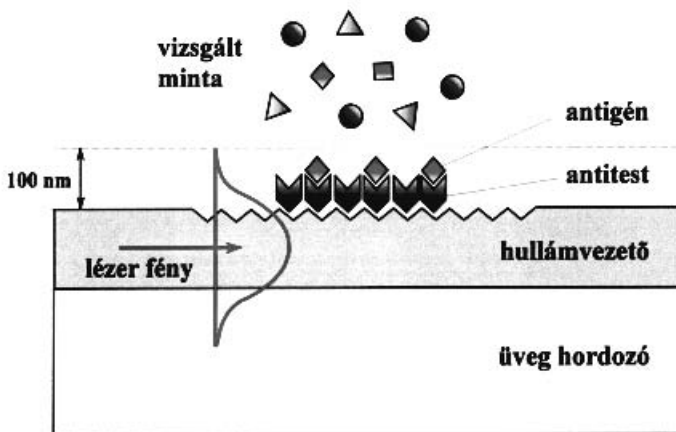
Figyelemre méltó hazai kutatások folynak bioszenzorokkal a Központi Élelmiszer-tudományi Kutató Intézetben is (Várad, 2005). Ezek során különböző együttműködések, főként a MicroVacuum Kft-vel való kapcsolat révén érdekes eredmények születtek kvarckristály mikromérleg (QCM), illetve az optikai hullámvezető fénymódus spektroszkópia (OWLS) technikákat alkalmazó immunszenzorokkal Escherichia coli sejtek koncentrációjának és az aflatoxin B1 meghatározására (Adányi et al., 2004, 2006). Az E. coli-ra készült kalibrációs görbét a 8. ábra, az OWLS készülék és immunszenzor működési elvét a 9. ábra mutatja.

## Epilógus

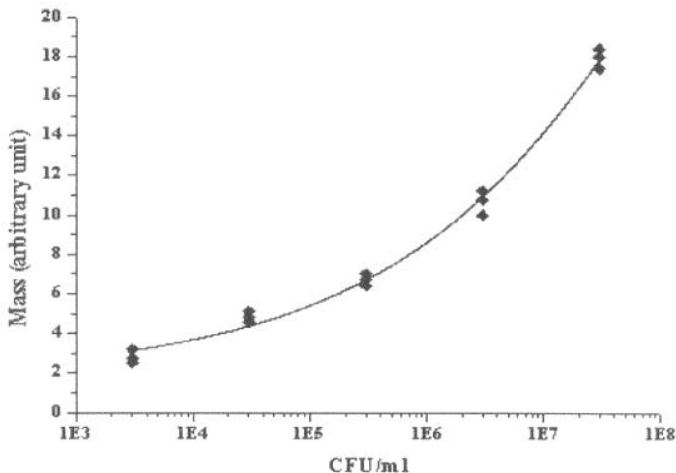
E vázlatos áttekintés is jelzi, hogy a gyors, műszeres analitikai módszerek és egyre szaporodó új megoldások igen széles választéka van kialakulóban mikrobiológiai alkalmazások céljaira is. Ez egyrészt kihívásokat, másrészt új lehetőségeket jelent az élelmiszer-mikrobiológia számára. A további fejlődésnek is feltétele a kutatás és fejlesztés



egységének olyan megvalósítása, ami az élelmiszer-mikrobiológia „atyjának”, Louis Pasteur-nak a tevékenységét már 140 évvel ezelőtt jellemezte. Mindez modern formában napjainkban a kockázat-elemzésnek nevezett tevékenységi rendszer megközelítés-módjában valósul meg az élelmiszerek biztonságának érdekében folytatandó multidiszciplináris együttműködés terén.



8. ábra: OWLS technikával működő immunszenzor működési elve (Majerné et al., 2007)



9. ábra: QCM analizátorral végzett *Escherichia coli* vizsgálat eredményei a baktérium koncentrációjának függvényében (Adányi et al., 2006)

## Irodalom

- Adányi, N., Levkovets, I. A., Rodriguez-Gill, S., Szendrő, I., Ronald, A., Váradi, M. (2004) The 8th World Congress on Biosensors, Granada. Abstract book, P.2.4.55.
- Adányi, N., Váradi, M., Kim, N., Szendrő, I. (2006) Development of new immunsensors for determination of contaminants in food. *Curr. Appl. Phys.*, 6 (2) 279-286.
- Anon. (2007) „Dipstick” test could reduce risk of food poisoning by rapidly detecting spoilage. *Medical News Today*. <http://www.medicalnewstoday.com/>
- Chantarachoti, J., Oliveira, A. C. M., Himmelbloom, B. H., Crapo, C. A., McLachlan, D. G. (2006) Portable electronic nose for detection of spoiling pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*). *J. Food Sci.*, 71 (5) S414 – S421
- Deák, T., Beuchat, L. R. (1993) Comparison of conductimetric and traditional plating techniques for detection of yeasts in fruit juices. *J. Appl. Bacteriol.*, 75, 546-550.
- Farkas, J. (1998) A kémiai analitika szerepe élelmiszerek minőségellenőrzésében. *Magyar Kémikusok Lapja*, 53, 414-415.
- Farkas, J. (2004) Mikrobás szennyezettség/aktivitás gyors kimutatása (élelmiszerekben, műszeres módszerek alkalmazásával). *Édesipar*, 50 (2) 51-56.
- Farkas, J., Andrassy, É., Beczner, J., Vidács, I., Mészáros, L. (2002) Utilizing luminometry for monitoring growth of *Listeria monocytogenes* in its liquid or gelified monocultures and co-cultures with 'acid-only' *Lactococcus lactis*. *Internat. J. Food Microbiol.*, 73, 159-170.
- Farkas, J., Mohácsiné Farkas Cs. (2003) GFP tesztorganizmusok élelmiszer-mikrobiológiai alkalmazási lehetőségei és korlátai. *Élelmiszervizsgálati Közlemények*, 49, 195-205.
- Fung, D. Y. C. (2002) Rapid methods and automation in microbiology. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 1, 3 – 22.
- Griffiths, M. W. (1996) The role of ATP bioluminescence in the food industry. New light on old problems. *Food Technol.*, June, 62-72.
- Griffiths, M. (2007) Luminescent techniques for microbiological analysis of foods. *New Food* (1) 57-61.
- Horváth, K., Andrassy, É., Korbász, M., Farkas, J. (2007a) Using automatic conductimetry for monitoring spoilage bacteria on chilled pork cutlets. *Acta Alimentaria*, 36, 283-291.
- Horváth, K., Seregély, Zs., Andrassy, É., Dalmadi, I., Farkas, J. (2007b) A preliminary study using near infrared spectroscopy to evaluate freshness and detect spoilage in sliced pork meat. *Acta Alimentaria*, 36 (közlésre elfogadva)
- Horváth, K., Seregély, Zs., Dalmadi, I., Andrassy, É., Farkas, J. (2007c) Estimation of bacteriological spoilage of pork cutlets by electronic nose. *Acta Microbiol. et Immunol. Hung.*, 54 (2) 179-193.
- Kafka, K., Farkas, J. (1999) A gázérzékelő sor – az elektronikus orr. *Magyar Kémikusok Lapja*, 54, 329-333.
- Kim, M. S., Lefcourt, A. M., Chen, Y.-R. (2003) Optimal fluorescence excitation and emission bands for detection of fecal contamination. *J. Food Sci.*, 66, 1198 – 1207.

- Kiss, I. F., Klósz, K., Farkas, J., Szabó-Simon, A. (1996) Estimation of viable cell count by bioluminescence method. A Poster. Food Micro'96, 16th International Symposium of the International Committee on Food Microbiology and Hygiene, Budapest, 26-30 August 1996.
- Lin, M., Mousavi, M., Al-Holy, M., Cavinato, A.G., Rasco, B.A. (2006) Rapid near infrared spectroscopic method for the detection of spoilage in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet. *J. Food Sci.*, 71 (1) S18-S23.
- Majerné Baranyi, K., Adányiné Kisbocskói, N., Csutorás, Cs., Kiss, A. (2007) Fűszerek aflatoxin B1 tartalmának vizsgálata immunszenzorral. Poszter. Centennáriumi Vegyészkonferencia, Sopron, 2007. május 29-31.
- Mohácsi-Farkas, Cs. Farkas, J., Reichart, O., Sárny, T., Mészáros, L. (1999a) Application of impedimetry for rapid estimation of bacterial contamination of pre-cut chilled vegetables and prediction of their microbiological shelf-life. In: Predictive Microbiology Applied to Chilled Food Preservation. pp. 237-244. International Inst. of Refrigeration, Paris; European Commission, Directorate General for Science, Research and Development.
- Mohácsi-Farkas, Cs., Kiskó, G., Farkas, J., Mészáros, L., Sárny, T. (1999b) Assessment of antibacterial effects of essential oils by automated impedimetry and preliminary studies on their utility as biopreservatives. pp. 279-281. In: A. C. J. Tuitelaars, R. A. Samson, F. M. Rombouts, S. Notermans (eds.) Food Microbiology and Food Safety into the Next Millennium. Foundation FoodMicro'99, c/o. TNO Nutrition and Food Res. Inst., Zeist, The Netherlands.
- Nógrádi, S. (1998) ATP-biolumineszcencia: egy lehetőség a higiénés gyorsellenőrzés és a HACCP-program megvalósításához. *Hűtőipar*, (1) 18-19.
- Reichart, O., Szakmár, K., Jozwiak, Á., Felföldi, J., Baranyai, L. (2007) Redox potential measurement as a rapid method for microbiological testing and its validation for coliform determination. *Int. J. Food Microbiol.*, 114, 143-148.
- Rule, P. (1997) Measurement of microbial activity by impedance. pp. 305-314. In: M. L. Tortorello, S.M. Gendel (eds.) Food Microbiological Analysis. New Technologies. Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, Hong Kong.
- Siripatrawan, U, Linz, J. E., Harts, B. R. (2006) Detection of *Escherichia coli* in packaged alfalfa sprouts with an electronic nose. *J. Food Protect.*, 69, 1844-1850.
- Siro, M.-R. (1985) Monitoring microbial growth by bioluminescent ATP assay. pp. 438-447. In: K. O. Habermehl (ed.) Rapid Methods and Automation in Microbiology and Immunology. Springer, Berlin, etc.
- Stewart, G. S. A. B., Aldsworth, T. G., Sharmen, R. L., Gibson, P. T., Dodd, C. E. R. (1997) Bioluminescence: lux as an enabling tool for the microbiological analysis of food. pp. 265-288. In: M. L. Tortorello, S. M. Gendel (eds.) Food Microbiological Analysis. New Technologies. Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, Hong Kong.
- Váradi, M. (2005) Az élelmiszerbiztonság és –minőség kihívásai az élelmiszeranalitikában. *Magyar Kémiai Folyóirat*, 111 (3) 118-123.
- Werlein, H.-D. (1996) Bestimmung des Oberflächenkeimgehaltes von Rinder- und Schweineschlacht-tierkörpern mit der Biolumineszenzmethode. *Fleischwirtsch.*, 76 (2) 179-181.

# **Analitikai technikák az élelmiszerek mikrobás szennyezettségének gyors vizsgálatára**

## **Összefoglalás**

Az élelmiszerek mikrobiológiai biztonságát elősegítő kockázat-kezelés veszély elemzésén és a „kritikus pontok” fizikai eszközökkel való szabályozásán alapuló HACCP rendszer alkalmazása az elmúlt két évtizedben igen jelentős eredményeket ért el világszerte. A mikrobiológiai vizsgálatok azonban szükségesek maradtak, akár a HACCP rendszer helyes működésének a validálására, illetve az élelmiszerlánc főként kereskedelmi részének az ellenőrzésére, továbbá a kockázat-becslési feladatokhoz. A több, mint 100 évvel ezelőtt kialakult, hagyományos és szabványosított mikrobiológiai vizsgálati eljárások hosszú időt és sok munkát vesznek igénybe, ezért növekszik az igény arra, hogy sok mintát rövid idő alatt lehessen megvizsgálni. Ehhez nyújtanak egyre több segítséget az élelmiszer-analitika fizikai, fiziko-kémiai és biofizikai vagy biokémiai változásokat érzékelő, gyakran jól automatizálható műszeres gyorsmódszerei. A cikk rövid áttekintést ad néhány olyan, alternatív analitikai technikáról, amelyek ilyen célra már beváltak vagy a kutatások alapján ígéretesek, sőt lehetőséget nyújtanak/nyújthatnak az élelmiszerekkel közvetíthető kórokozó mikroorganizmusok szelektív kimutatására is.

Már az 1980-as évek második felében jelentős sikerek születtek impedancia/konduktancia és kapacitancia mérésén alapuló, egyidejűleg sok mintát inkubáló, automatizált műszerek kifejlesztése eredményeképpen, amelyek az élelmiszerek mikrobás szennyezettségét a mintákkal „beoltott” tápközegnek az élő mikroorganizmusok szaporodása és anyagcsere-termékei okozta impedancia-csökkenésével mérik. Megfelelően szelektív tápoldatokkal specifikus vizsgálatok is lehetségesek velük. Elektrometriás módszert alkalmaz a közelmúltban hazánkban kifejlesztett, a beoltott tápközeg redox-potenciáljának a tenyésztés közbeni csökkenését regisztráló mérőrendszer. Élő mikroba-populációk igen gyors kimutatására alkalmas és felületek mikrobás szennyezettségének vizsgálatára már széles körben elterjedt a mikrobasejtek ATP-tartalmán alapuló, a luciferáz-luciferin enzimes reakció során kibocsátott fény intenzitását mérő, akár hordozható, kézi műszerrel is végezhető módszer. Az utóbbi évek kutatásai alapján többféle spektroszkópiai (főként NIR, illetve spektrofluorimetriás) módszer is ígéretesnek bizonyult előzetes, kemometria értékeléseken alapuló kalibrációk után egy élelmiszerek frissessége elvesztésének vagy mikrobás szennyezettségüknek kimutatására és a mikrobiológiai szennyezettség változásának a nyomon követésére, gyors, gyakran roncsolás-mentes és vegyszer használatot nem igénylő módon. Célszerűen kiválasztott kémiai szenzor sorozat („elektronikus orr”) megfelelő kemometriás adatfeldolgozással ugyancsak „megtanítható” élelmiszer-minták feletti gáztér komplex illóanyag-tartalmának érzékelésével a mikroorganizmusok által termelt specifikus illó komponensek észlelése révén a mikrobás szennyezettség kvantitatív és kvalitatív vizsgálatára. A bioszenzor kutatás is sokirányú alkalmazást alapozott már mikroba-eredetű anyagok, például toxinok, de egész mikrobasejtek (pl. kórokozók) detektálására.

# **Analytical techniques for rapid investigation of microbial contamination of foods**

## **Abstract**

The application of the food safety assurance and risk management system, HACCP, which is based on a hazard analysis and physical control of critical points of food processing, achieved very important results world-wide in the last two decades. However, microbiological investigations remained necessary, e.g. for validation of the HACCP system, and particularly for inspection of the food trade or performing risk assessment tasks. The traditional and standardized microbiological testing methods, which developed more than 100 years ago, are time- and labour-consuming. Therefore, there is an increasing demand for methods, which are capable to investigate many samples in a short time. This task can be assisted by certain rapid instrumental and frequently automated methods of food analysis, measuring physical, physico-chemical and biophysical, biochemical parameters. This paper provides a brief survey of several analytical techniques which are proved to be or promising for testing microbial contamination or may/might even offer opportunities for detecting food-borne pathogens selectively.

Already after 1985 successful applications of various automatic instruments have been accomplished, which are commercially available and measuring microbial contamination simultaneously in many samples by registering changes in impedance/conductance or capacitance in nutrient media inoculated with the food samples. The measurement is based on formation of various, electrically charged/ionized molecules as a consequence of microbial growth and metabolism. Appropriate selective media enable to perform detection of specific microorganisms. Very fast detection of microorganisms is possible by a luminometric method based on the estimation of the ATP content of the viable cells by the luciferase-luciferin enzymatic reaction, going with a light emission. The ATP tests can be performed even by portable, hand-held instruments. On the basis of the recent years of research, various spectroscopic (near infrared, or spectrofluorimetric) methods proved to be promising after chemometric calibration for rapid detection of loss of freshness, or, microbial spoilage of certain foods. These rapid techniques are frequently reagent-less and non-destructive. One can „train” selected chemosensor arrays („electronic noses”) with proper chemometric data-evaluations for sensing volatile components in the head-spaces of foods formed by microorganism and determine thereby quantitatively or qualitatively their microbial contamination. Research on various biosensors has led also to foundation of numerous applications for detection of microbial metabolites (e.g. toxins) or even whole cells (e.g. certain pathogens).