

REDOX-POTENCIÁL MÉRÉSEN ALAPULÓ GYORS MIKROBIOLÓGIAI MÓDSZER VALIDÁLÁSA

ÉS IPARI ALKALMAZHATÓSÁGÁNAK VIZSGÁLATA

NÁDASKINÉ DR. SZAKMÁR KATALIN

DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI



Élelmiszertudományi Kar

Budapest

2009.

A doktori iskola

megnevezése: Élelmiszertudományi Doktori Iskola

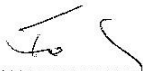
tudományága: Élelmiszertudományok

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

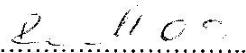
Témavezető: Dr. Reichart Olivér
egyetemi docens, CSc
Élelmiszer-higiéniai Tanszék
Állatorvos-tudományi Kar
Szent István Egyetem

A doktori iskola- és a témavezető jóváhagyó aláírása:

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



.....
Az iskolavezető jóváhagyása



.....
A témavezető jóváhagyása

1. AZ ÉRTEKEZÉS ELŐZMÉNYEI ÉS TUDOMÁNYOS CÉLKITŰZÉSEI

A mikrobiológiai minőségellenőrzéssel kapcsolatos feladatok utóbbi évtizedekben bekövetkezett igen nagy mértékű növekedése támasztotta azt az igényt, hogy a mikroorganizmusok kimutatására szolgáló klasszikus élősejtszám-meghatározási módszereket gyorsabb, és emellett automatizálható új vizsgálati eljárásokkal váltsák fel.

Különösen nagy jelentőségű a gyors mikrobiológiai eredmény megadása ivóvíz vizsgálatok esetében, ahol a későn felismert nem megfelelő mikrobiológiai állapot esetenként komoly egészségügyi kockázatot jelent. Ásványvíz vizsgálatok esetében pedig a későn észlelt mikrobiológiai szennyeződés az üzemnek jelent komoly gazdasági kárt (legyártott tételek megsemmisítése).

A klasszikus mikrobiológiai vizsgálatok időigénye a meghatározandó mikroorganizmustól függően 24-72 óra (esetenként jelentősen hosszabb idő). A mikrobiológiai kockázatok gyors felismerésének és csökkentésének igénye, a minőségbiztosítási és HACCP rendszerek hatékony működtetése szükségessé teszi a mikrobiológiai kiértékelés meggyorsítását, célszerű automatizálását, lehetőleg egyidejű költségcsökkentés mellett

A mikrobák szaporodása során a táptalaj redox-potenciál értéke is változik. A redox-potenciál mérési lehetősége nagyon régóta ismert, de mikrobák számának meghatározására eddig még nem alkalmazták. A SZIE ÁOTK Élelmiszer-higiéniai Tanszékének és a Corvinus Egyetem Élelmiszertudományi Kar Fizika és Automatizálás Tanszékének munkatársai által kifejlesztett és forgalmazott (szabadalmaztatás alatt álló) *MICROTESTER* elnevezésű berendezés a mikrobaszaporodás eredményeként bekövetkező redox-potenciál változás mérésén alapul. A fejlesztésben való közreműködőként az új módszer mikrobiológiai megalapozásához szükséges vizsgálatokat önállóan végeztem, dolgozatomban ezen eredmények felhasználásával az új eljárás teljesítmény-jellemzőit, alkalmazási lehetőségeit és vízre vonatkozó validálását ismertetem.

A redox-potenciál mérésen alapuló *MICROTESTER* készülék alkalmazása lehetőséget teremt arra, hogy a vizsgált minták mikrobaszámát a jelenlegi tenyésztéses módszereknél gyorsabban és nagyobb minta-mennyiségekből (Pl. az általánosan előírt 100-250 ml helyett 1000-10000 ml mintából) határozzuk meg. A módszer egyik nagyon fontos előnye a

klasszikus tenyésztési meghatározásokhoz viszonyítva, hogy míg a tenyésztési módszerek kiértékelésének időigénye független a vizsgált mikrobaszámtól, addig a redox-potenciál mérésen alapuló eljárás kimutatási időigénye a mikrobák számának növelése (membránszűrés) révén jelentősen csökkenthető.

Munkám célja a következőkben foglalható össze:

- mikroorganizmusok szaporodása során bekövetkező redox-potenciál változás vizsgálata és az egyes mikroorganizmusok szaporodási redox-görbéinek meghatározása
- annak igazolása, hogy a redox-potenciál mérés alkalmazható élelmiszerek és különösen a víz mikrobaszámának gyors meghatározására
- a redox-potenciál méréssel történő gyors mikrobiológiai vizsgálati módszer validálása ivó- és ásványvíz mikrobiológiai vizsgálatára az alábbi mikrobacsoportokra vonatkozóan:
 - Össz-mikrobaszám 37 és 22 °C-os tenyésztéssel
 - Kóliform baktériumok kimutatása és számszerű meghatározása
 - *Escherichia coli* kimutatása és számszerű meghatározása
 - Enterokokkuszbélbaktériumok kimutatása és számszerű meghatározása.
 - *Pseudomonas aeruginosa* kimutatása és számszerű meghatározása.

2. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

2.1. Táptalajok

A kísérletekhez szabványos, döntően Merck táptalajokat használtunk.

Hígítási sor készítéséhez hígító-folyadékként 1 g/l peptont és 8,5 g/l Nátrium-kloridot tartalmazó, $7,2 \pm 0,2$ pH-jú sós peptonvizet használtunk.

2.2. Mikroba törzsek

A kísérletek során felhasznált mikroorganizmusok a Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteményéből származtak, tárolásuk liofilizált állapotban történt. Kitenyésztésükre a mikrobiológiai gyakorlatban szokásos táptalajokat használtuk.

2.3. Redox-potenciál mérés

2.3.1. A mérőműszer leírása

A műszert és a hozzá tartozó szoftvert a Corvinus Egyetem Fizikai- és Automatizálási Tanszékének munkatársai készítették.

A redox-potenciál méréséhez kereskedelmi forgalomból beszerezhető kombinált mérőelektrodokat használunk.

A moduláris felépítésű mérő rendszer a mérési igényeknek megfelelően bővíthető. Minimális csatornaszám: 4, maximális csatornaszám: egy készülékben 64 csatorna, de szükség esetén a készülékek láncolhatóak, így több készülék összekapcsolásával 256 csatornaszám érhető el.

A rendszer működtetéséhez szükséges egy IBM-kompatibilis személyi számítógép szabványos RS232C interfésszel (COM port). A hardver irányítás szempontjából a PC konfigurációja nem kritikus.

A vezérlés és adatfeldolgozás céljára kifejlesztett program működésének leírása

Adatgyűjtés

A program a „Mérés > Start” menüponttal történő indítás után folyamatos adatgyűjtést végez, minden mérőcsatornát kiolvass. A beolvasott adatok rögzítése csak akkor történik meg, ha a csatorna beállításai szerint ez szükséges. Az elektronika triggerelése után csatornánként 300 ms számítható várakozási időnek (a számítógép okozta csúszások és egyéb várakozási idők miatti tartalékkal).

Zajszűrés

A zajos környezetben történő adatgyűjtés támogatására bekapcsolható a simítás. Az algoritmus a forráskódban rögzített ideig (legalább 5 beolvasás ajánlott) megkapott adatok

közül törli a legkisebb és legnagyobb értékeket, a maradékot (legalább 3 adat) pedig átlagolja.

Paraméterezés

Az adatgyűjtés csatornánként egyedileg paramétereztető

Tárolás, mentés

A begyűjtött adatokat táblázatban tárolja a szoftver, amely táblázat egyben és csatornánként is elmenthető. A mentés formátuma ASCII tagolt szöveg. A tizedes jelet az operációs rendszer területi beállításai adják, így a telepített táblázatkezelő és statisztikai programokba könnyen beolvasható konverzió nélkül. A csatornánként történő mentés során az adatok értékelése is mentésre kerül. A csatornák egyedi paramétereztetősége miatt minden esetben az adatok mellett a tárolás - mérés kezdetétől mért - relatív ideje is mentésre kerül.

Adat kezelés, értékelés

Referencia érték

A redox-potenciál mérés során mV értékeket mér az elektronika, melyek korrigálhatóak egy additív (pl. normál hidrogén elektródra vonatkozó) referencia értékkel. A jelölés ekkor „E, mV”-ról „Eh, mV”-ra változik.

Detektációs idő számítása

A detektációs idő az a pillanat, amikor a mért idősorban a mV értékek idő szerinti differencia-hányadosa meghaladja a választott határértéket. A véletlen mérési hibák kiküszöbölése miatt beállítható, hogy több egymást követő, a határértéket meghaladó differencia-hányados esetén jelölje csak az adott pontot detektációs időként. A szoftverben beállítható paraméterek:

- kritikus differencia-hányados (detektációs kritérium) értéke (mV/min)
- a kritikus értéket meghaladó mérési pontok minimálisan megkívánt száma (a pozitív mérések száma, javasolt: 3)
- értékelés kezdete (min)
- sejtszám határérték, amely felett a minta mikrobiológiai állapota kifogásolandó (N_{krit})

Értékelés

Az értékelés kezdete beállításával az idősor eleje nem vesz részt a számításban. A mérés elejének bizonytalanságai így kiküszöbölhetőek. A detektációs idő számított értékét (TTD) az előzetesen meghatározott kalibrációs görbe egyenletébe helyettesítve, kiszámítható a vizsgált minta mikrobaszáma.

A számított és a felhasználó által megadott sejtszámok összehasonlításából meghatározható a csatorna mérésének mikrobiológiai értékelése: elfogadható (PASSED), vagy elutasított (FAILED). Ha a számított érték eléri a felhasználó által megadott határt, az értékelés: FAILED.

Grafikus megjelenítés

Grafikon típusok

A következő grafikon típusok választhatóak:

- összesített: minden mérő csatorna megjelenik
- mozaik: minden csatorna önálló grafikonnal jelenik meg
- csoportosított: kijelölt adatsorok egy grafikonon jelennek meg (max. 4 db csoport hozható létre)

A mozaik típusnál minden egyedi grafikonon látható a detektációs idő értéke (ha van), és annak alapján számított sejtszám, valamint a sejtszám szerinti értékelés.

Port monitor

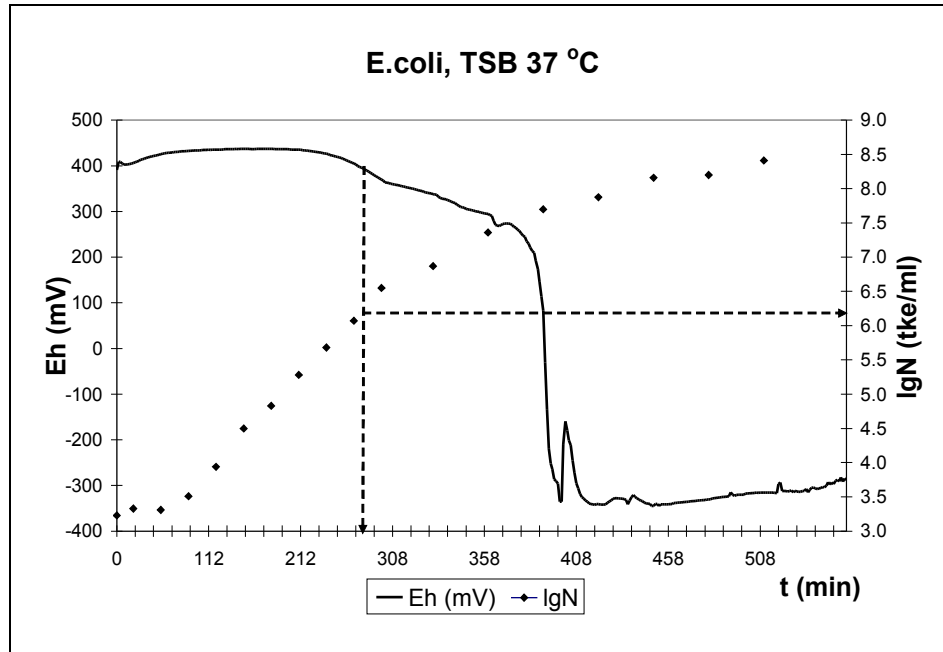
Az aktuális adatok folyamatos követésére beépítve található egy port monitor ablak, amely a port olvasás periódusidejével frissülve minden aktív csatorna adatát megmutatja.

2.3.2. A mérési eljárás ismertetése

A szaporodási görbe és a redox-potenciál görbe kapcsolata

A mérési eljárás elvi alapja az, hogy a baktériumok szaporodása folyamán az energia-termelő biológiai oxidációs reakciók eredményeként a környezet redox-potenciálja egy meghatározott mikroba koncentráció felett jól detektálhatóan csökken. Detektációs időnek (TTD) tekintjük azt az időpontot, amikor a redox-potenciál változás sebességének abszolút

értéke egy, a véletlen hatásoktól szignifikánsan különböző értéket (pl. $|dE/dt| \geq 0,5$ mV/perc) meghalad. Ezt az értéket detektációs kritériumnak nevezzük (Reichart et al 2007). *Escherichia coli* szaporodási és redox-potenciál görbéje látható az 1. ábrán.



1. ábra *Escherichia coli* szaporodási és redox-görbéje

Az ábrán nyíllal jelöltem a TTD értékét és a hozzá tartozó mikroba-koncentrációt.

Kalibrációs görbe meghatározása

Mivel a kritikus redox-potenciál csökkenés meghatározott mikrobaszámnál következik be, ezért a TTD függ a minta kezdeti mikrobaszámától.

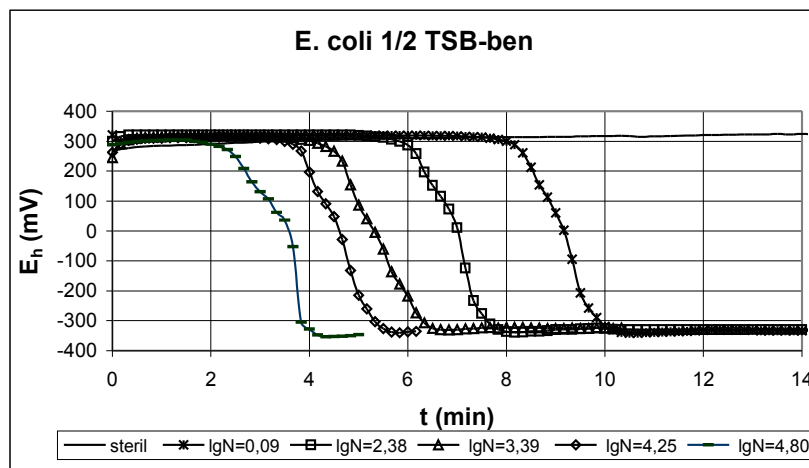
Kalibrációs görbe készítéséhez a vizsgálandó mikroba szuszpenzióból, sós peptonvízben 10-es alapú hígítási sort készítettem. A hígítási sor tagjaiból 1-1 ml-t oltottam 90 ml 1/2 TSB táptalajt tartalmazó mérőcellába majd a mérőcellákat vízfűdős termosztátba helyeztem és felvettem az egyes hígításokhoz tartozó redox görbéket. Egyidejűleg meghatároztam a hígítási sor tagjainak mikrobaszámát.

A redox-potenciál kritikus változásához tartozó időt (TTD, Time to Detection, Detektációs idő) a műszer automatikusan határozza meg.

Detektációs időnek tekintjük azt az időpontot, amikor a redox-potenciál csökkenési sebessége (a redox-görbe idő szerinti differencia-hányadosa) meghaladja az általunk előírt kritikus értéket (Pl. kóliform mikroorganizmusok esetében $|\Delta E/\Delta t| > 1$ mV/perc).

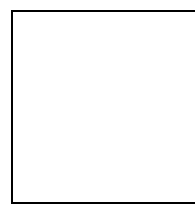
Különböző kiindulási sejtkoncentrációknál meghatározva a detektációs időket (TTD), szoros lineáris korreláció állapítható meg a TTD értékek és a kezdeti sejszámok logaritmusa ($\lg N_0$) között. *Az összetartozó $\lg N_0 - TTD$ értékpárokból lineáris regresszióval kiszámított összefüggés adja a kalibrációs görbe egyenletét, amely a továbbiakban alapját képezi a kiindulási sejtkoncentráció redox-potenciál méréssel történő meghatározásának.*

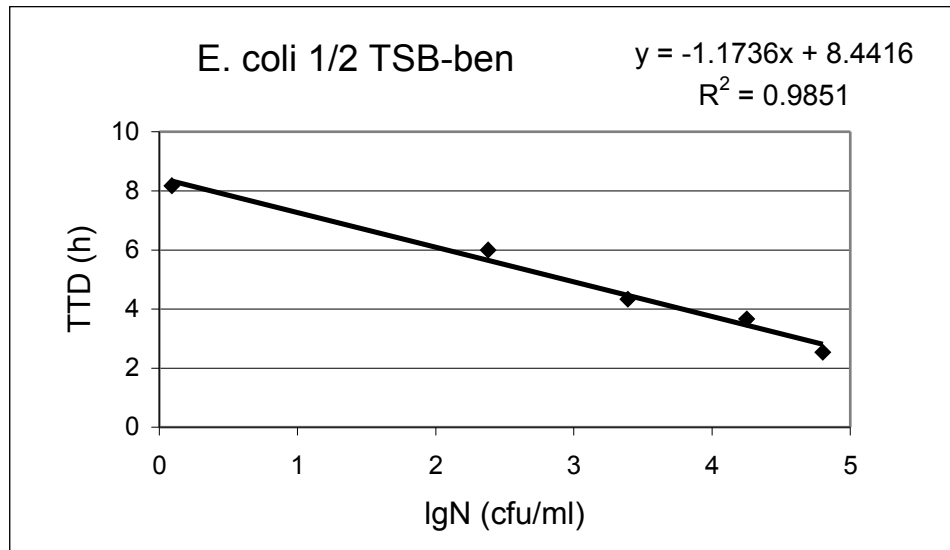
A 2. ábrán *Escherichia coli* különböző kezdeti mikrobaszámú mintáinak redox-potenciál csökkenése látható. A redox-potenciál értékeket a műszer 10 percenként detektálta.



2. ábra *Escherichia coli* redox-potenciál változása különböző kezdeti mikrobaszámok esetén.

Ábrázolva a TTD értékeket a $\lg N$ függvényében egy egyenest kapunk, amely a 3. ábrán látható. Ez az egyenes a kalibrációs görbe.





3. ábra *Escherichia coli* kalibrációs görbéje 1/2 TSB táptalajban (T=37 °C).

A *MICROTESTER* alkalmazása során, először a vizsgálni kívánt mikroorganizmus kalibrációs görbéjének egyenletét számítjuk ki:

$$TTD = a \cdot \lg N + b$$

A mérések során a rendszer TTD értékeket határoz meg, amelyekből a kalibrációs görbe alapján számítja ki a lgN értékeket a következő egyenlet felhasználásával:

$$\lg N = A \cdot TTD + B, \quad \text{ahol } A = 1/a \quad B = b/a$$

A értéke mindig negatív, mértékegysége attól függ, hogy a TTD értékeket percben vagy órában fejeztük ki. A és B értékét betáplálva a programba lehetőségünk van a vizsgált minták élősejtszámának automatikus meghatározására. Az élősejtszám mértékegysége (tke/ml, sejt/g, stb.) attól függ, hogy a kalibrációs görbe felvételekor az N_0 értékeket hogyan adtuk meg.

3. A TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

3.1. A redox-potenciál, mint mérési paraméter kiválasztásának indoklása

A szaporodás során mért redox-potenciál érték nem független a táptalaj pH-jától, amely maga is változik a szaporodás során. Annak a kérdésnek eldöntésére, hogy a mért redox-potenciál változást mennyiben befolyásolja a pH változása, együttesen mértem az egyes mikrobák E_h és pH változását. A kapott értékekből kiszámítottam a kombinált hatást kifejező rH értékeket is.

A vizsgálati eredményekből egyértelműen kiderül, hogy a szaporodás detektálására a pH változás nem alkalmas. A szaporodás a redox-potenciál mérésével jól követhető, a redox-potenciál csökkenés minden baktérium esetében jól detektálható. Minden mikroba esetében egyértelműen meghatározható a detektációs idő (TTD). A detektációs kritérium (dE_h/dt) értéke $-0,4$ és -1 mV/min között mikrobacsoportonként változik, de egy-egy mikrobacsoportra tekintve jellemző érték.

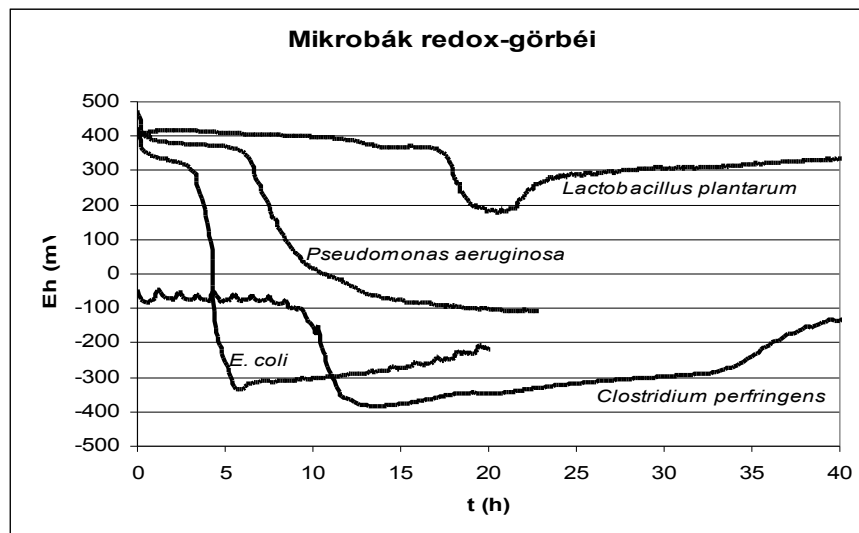
3.2. A mikrobaszaporodás és a redox-potenciál változásának összefüggése

3.2.1. *Szelektív táptalaj hatása redox görbe lefutására*

Megvizsgáltuk, hogy szelektív táptalaj (BLE) alkalmazása befolyásolja-e a görbe alakját. Megállapítottuk, hogy a szelektív táptalaj alkalmazása a görbe lefutását nem befolyásolja.

A redox-potenciál valamennyi, általunk vizsgált, baktérium szaporodása során csökken, azonban a csökkenés mértékében és sebességében jelentős különbségek figyelhetők meg, amelyek mikrobacsoportonként változnak és az egyes mikrobacsoportokra jellemző görbéket adnak. Az eltérő lefutású görbék lehetőséget adnak arra, hogy a görbe alakjából következtessünk a mintában jelenlévő mikroba fajra. Ez a lehetőség tovább növelheti a táptalajok szelektivitását.

Néhány baktérium szaporodási redox-görbét mutatom be a 4. ábrán.



4. ábra Baktériumok szaporodási redox-görbéi

3.2.2. Az egyes mikroorganizmusok redox-görbéinek finomszerkezete

Meghatároztuk az élelmiszeripari szempontból fontosabb baktériumok görbéinek finomszerkezetét. A szaporodási görbéhez a mikrobaszám meghatározása – félóránként vett mintákkal - lemezöntéses módszerrel, 10-es alapú hígítási sor készítésével történt. A redox-potenciál értékeket kétpercenként detektáltuk. Meghatároztuk az egyes mikrobákra vonatkozó detektációs kritériumokat, valamint a TTD eléréséhez szükséges mikrobaszámokat. Az eredményeket az 1. táblázatban foglaltam össze.

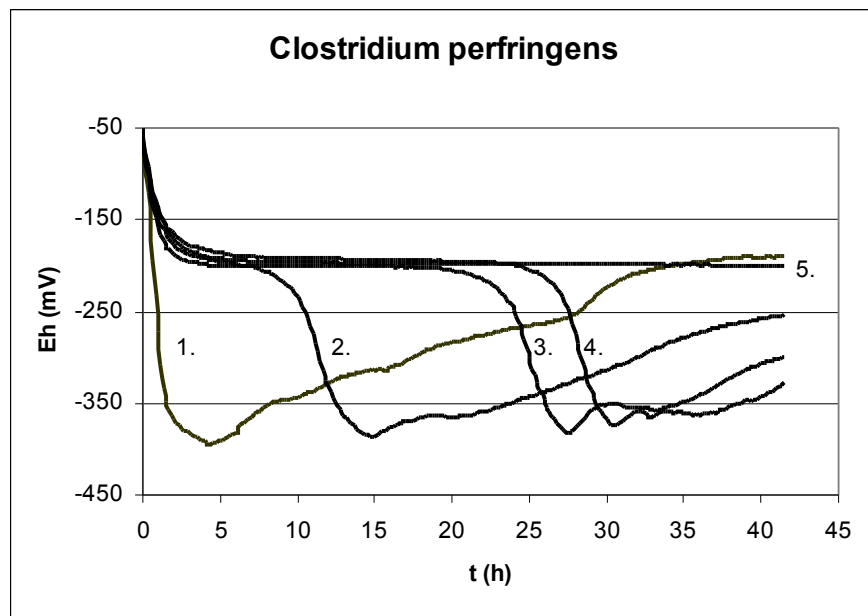
1. táblázat Egyes baktériumok detektációs jellemzői

Baktérium	detektációs kritérium (mV/min)	TTD eléréséhez szükséges mikrobaszám (tke/ml)
<i>Escherichia coli</i>	-1	$1,78 \times 10^6$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-0,5	$1,91 \times 10^6$
<i>Enterococcus faecalis</i>	-0,4	$7,08 \times 10^6$
<i>Bacillus cereus</i>	-0,5	$1,26 \times 10^6$
<i>Staphylococcus aureus</i>	-0,5	$4,47 \times 10^6$

3.2.3 Mérés belső kalibrációs görbével

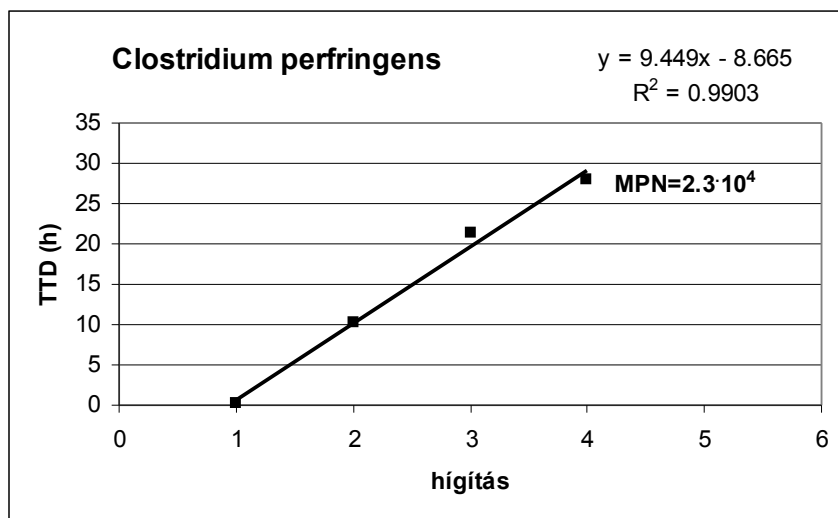
Ezt a módszert akkor alkalmazzuk, amikor nem tudunk előzetesen felvett kalibrációs görbét használni, mert a mikroflóra összetétele nem ismert.

Ebben az esetben a mintából 10-es alapú hígítási sort készítünk, úgy, hogy az utolsó hígítás(ok)ban már ne legyen élősejt kimutatható (MPN módszer). A hígítási sor minden tagját egy (vagy több párhuzamos) mérőcellába oltjuk és meghatározzuk a TTD értékeket. A szaporodást mutató utolsó hígítási szintek ismeretében MPN-táblázat segítségével kiszámítjuk a minta kezdeti élősejtszámát. Az utolsó pozitív hígítási szint ismeretében meghatározott N_0 értékből a kalibrációs görbe megszerkeszthető. Példaként a *Clostridium perfringens* belső kalibrációs görbéjének meghatározását mutatom be az 5. és a 6. ábrákon.



5. ábra *Clostridium perfringens* redox görbéi tioglikolát tápoldatban ($T=37\text{ °C}$)
(Az ábrán számokkal jelöltem a hígítási szinteket)

A TTD értékeket a hígítás függvényében az 6. ábra szemlélteti.

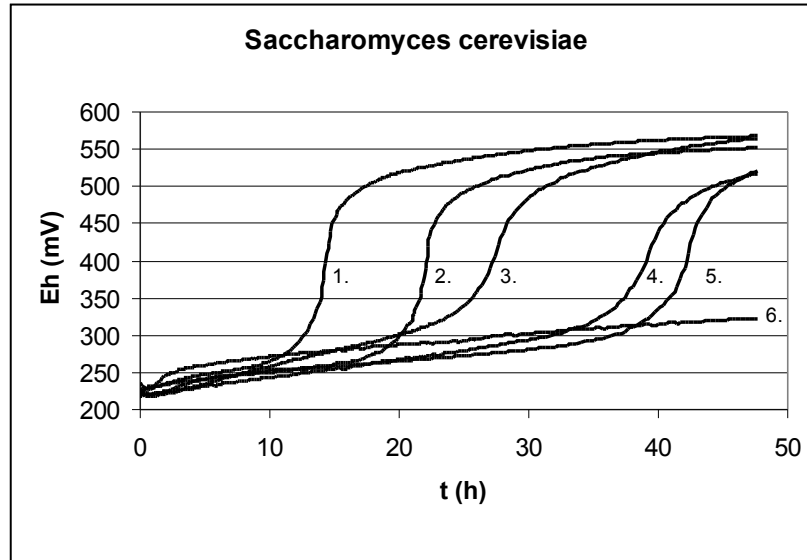


6. ábra *Clostridium perfringens* TTD értékei a hígítás függvényében tioglikolát tápoldatban (T = 37 °C)

3.2.4. Penész- és élesztőgombák számának meghatározása indirekt méréssel

Penész- és élesztőgombák szaporodása során a redox-potenciál változása közvetlenül nem mérhető. Ebben az esetben - az impedimetriás eljárásokhoz hasonlóan – indirekt módon, a szaporodás során képződő CO₂ mérésével lehet a szaporodást detektálni. A gombák légzése során képződő CO₂-ot 0,002 M KOH oldatban nyeletjük el és az oldat redox-potenciál változását mérjük. Ebben az esetben a redox-potenciál nem csökken, hanem nő, detektációs kritériumként $j \geq 0,2 \text{ mV/min}$ értéket használtam.

Saccharomyces cerevisiae szaporodási redox-görbéi láthatók a 7.ábrán.



7. ábra *Saccharomyces cerevisiae* indirekt méréssel meghatározott szaporodási redox-görbéi maláta levesben ($T=25\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\text{KOH}=0,002\text{M}$)

1: $\lg N=4,1$; 2: $\lg N=3,1$; 3: $\lg N=2,1$; 4: $\lg N=1,1$; 5: $\lg N=0,1$; 6: steril

3.3. A mérési eljárás validálása

A redox-potenciál mérésre alapozott mikrobaszám-meghatározási módszer validálásakor az alábbi teljesítményjellemzőket határoztuk meg:

3.3.1. Szelektivitás (Selectivity)

A módszer szelektivitását alapvetően az alkalmazott táptalajok szelektivitása határozza meg.

Kóliformok, Enterococcusok és *Pseudomonas aeruginosa* szelektív meghatározásához BLE-, Azid- és Cetrimid levest használtunk. Minden esetben a jellegzetes zavaró mikroflórával vegyesen oltottuk a mérőcellákat. A redox-görbék alakjából egyértelműen megállapítható, hogy a szelektív táplevesekben csak a cél-mikroba szaporodik.

3.3.2. Linearitás (Linearity)

Az analitikai eljárás által adott jel (TTD) és a meghatározandó mennyiség (lgN) közötti összefüggés linearitása.

A redox-potenciál mérésen alapuló élősejtszám-meghatározási módszer linearitását a kiindulási sejtkoncentráció logaritmusának függvényében ábrázolt TTD értékekkel szemléltetem. Teszt-mikroba szuszpenziójából tízes léptékű hígítási sort készítünk sós pepton oldattal. A hígítási sor minden egyes tagjából 1,0 ml-t pipetázunk a mérőcellába, és műszeresen meghatározzuk a TTD értékét. Az alap szuszpenzió mikrobaszámát lemezöntéses módszerrel meghatározzuk és ebből az értékből kiszámítjuk az egyes hígításokhoz tartozó mikrobaszámokat. A TTD értékeket ábrázolva a lgN értékek függvényében, az összefüggést lineáris regresszióval határozzuk meg.

3.3.3. Érzékenység (Sensitivity)

A mérési módszer érzékenységét a kalibrációs görbe meredeksége adja meg, az adatokat a 2. táblázat foglalja össze.

2. táblázat A redox-potenciál mérésen alapuló sejtszám-meghatározás érzékenysége

Microorganizmus	Tápleves	Regressziós egyenlet	Érzékenység (min/lg egység)	95 %-os konf. i.v.
<i>Citrobacter freundii</i> anaerob	BLE	TTD (min) = 1190 - 132·lgN	132	±49
<i>Citrobacter freundii</i> aerob	BLE	TTD (min) = 1020 - 102·lgN	102	±13
<i>Klebsiella oxytoca</i> anaerob	BLE	TTD (min) = 856 - 88·lgN	88	±46
<i>Enterobacter aerogenes</i>	BLE	TTD (min) = 774 - 81·lgN	81	±9
<i>Escherichia coli</i>	BLE	TTD (min) = 596 - 68·lgN	68	±11
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Cetrimid	TTD (min) = 1440 - 155·lgN	155	±18
<i>Enterococcus faecalis</i>	Azid	TTD (min) = 836 - 92·lgN	92	±7

A 2. táblázatban összefoglalt adatokból megállapítható, hogy a kiindulási sejtkoncentráció egy nagyságrendnyi növelése a detektációs időt mikrobától függően 68 – 155 perccel csökkenti.

3.3.4. *Kimutatási határ (Detection limit)*

Kimutatási határ az a legkisebb sejtszám a mérőcellában, amely még detektációs időt ad. Mivel a steril tápleves redox-potenciál változása nem éri el a detektációs kritériumként megadott értéket, a TTD értékek mindig sejtszaporodást reprezentálnak. Az **elméleti kimutatási határ 1 sejt/mérőcella**, ezért az eljárás alkalmas jelenlét/hiány vizsgálatára is.

3.3.5. *Meghatározási határ (Quantitation limit)*

Meghatározási határ azt a legkisebb mikrobaszámot jelenti, amely még elfogadható pontossággal és precizitással határozható meg.

Kis sejtkoncentrációk esetében a mikrobák a kivett minta-térfogatban Poisson eloszlást követnek. A mikrobaszám 10-15 fölötti átlagértékénél ez az eloszlás már normál-eloszlással közelíthető, amely megfelel a regresszió-számítás matematikai-statisztikai feltételeinek. **Az elméleti meghatározási határ 10 sejt/inokulum ($\lg N_0 = 1,0$), ami igen jól egyezik a kalibrációs görbék adataival.**

3.3.6. *Mérési tartomány (Range)*

Méréstartomány alatt értjük azt a tartományt, amelyen belül a sejtkoncentráció megfelelő pontossággal, precizitással és lehetőleg linearitással meghatározható

A kalibrációs görbék bizonyossága szerint a vizsgált **módszer méréstartománya $\lg N_0=1$ és $\lg N_0=7$ (10 és 10^7 sejt/inokulum) érték közé esik.** 10 alatt a sejtszám mintán belüli Poisson eloszlása okoz problémát, 10^7 sejt/mérőcella koncentráció fölött a TTD értéke túl kicsi a mérési módszer tranzienst folyamatainak (hőmérséklet-, redox-egyensúly beállása, szaporodás lagperiódusa) időigényéhez viszonyítva

3.3.7. *Pontosság (Accuracy / Trueness)*

A módszer pontossága a méréstartomány valódiságának mértéke, a módszer rendszeres hibájának jellemzője.

A redox-potenciál mérésen alapuló mikrobaszám-meghatározási eljárás a sejtszám-logaritmus és a detektációs idő között meghatározott regressziós összefüggéseken alapszik, a módszer pontossága a kalibrációs görbék megbízhatóságától függ. ***A pontos meghatározáshoz minden mikroba-populáció és tápközeg kombináció egyedi kalibrációs görbét igényel.***

3.3.8. Precizitás (Precision)

A módszer precizitása a kölcsönösen független megismételt vizsgálatok eredményei közötti egyezés mértéke, a módszer véletlen hibája, a becsült tapasztalati szórással (SD) adható meg. Egy vizsgálati eljárás precizitásának két fő jellemzője az ismételhetőség és a reprodukálhatóság.

- **Ismételhetőség** a precizitás azon fajtája, amely ismételhető körülmények között elvégzett kísérletekre vonatkozik.

Véletlen hiba: (azonos laboratórium, azonos minta, azonos módszer, azonos műszer, azonos kezelő, rövid időintervallum a párhuzamos mérések között).

Intermediate precision: (azonos laboratórium, azonos minta, azonos műszer, eltérő kezelő, eltérő napokon vizsgál)

Ismételhetőségi értékek meghatározása laboratóriumi tiszta tenyészetekkel

Az ismételhetőségre jellemző szórás meghatározására két lehetőségünk van:

- A $TTD = -a \lg N + b$ kalibrációs görbe regresszió-analíziséből leszármaztatva. Kalibrációs görbék egyenletének regresszió-analíziséből meghatározva σ_{TTD} értékét és ebből kiszámítva a $\lg N$ értékek maradék szórását ($\sigma_{\lg N}$)

$$\sigma_{\lg N} = \frac{\sigma_{TTD}}{a}$$

- A kalibrációs görbéhez meghatározott $\lg N - TTD$ érték párokból meghatározott $\lg N = f(TTD)$ összefüggés regresszió-analíziséből közvetlenül meghatározva.

Amennyiben a kalibrációs görbék felvételénél minden sejtszámhoz csak egy TTD értéket mérünk, a két számítási eljárás teljesen azonos eredményt ad. Ebben az esetben a maradék szórás megegyezik a regresszió standard hibájával.

Számításaink során, kihasználva az alkalmazott program (Excel) által nyújtott lehetőségeket, a maradék szórások kiszámítására a $\lg N=f(\text{TTD})$ regresszió-analízist használtuk fel.

A redox-potenciál mérésen alapuló mérési módszer ismételhetőségének adatait a 3. táblázat foglalja össze.

3. táblázat Redox-potenciál mérésen alapuló módszer ismételhetősége tiszta tenyészetek vizsgálatánál

Mikroba	Tápleves	Ismételhetőség $SD_{\lg N}$	Relatív szórás $RSD_N (\%)$
<i>E. coli</i> szuszpenzió	BLE	0,0484	12
<i>E. coli</i> membrán	BLE	0,2732	88
<i>Citrobacter freundii</i> aerob	BLE	0,3553	127
<i>Citrobacter freundii</i> anaerob	BLE	0,1195	32
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Cetrimid	0,2338	71
<i>Enterococcus faecalis</i>	Azid	0,0786	8

A laboratóriumi körülmények között meghatározott ismételhetőségi értékek, illetve relatív szórások csak tájékoztató jellegűek, erősen függenek a törzsgyűjteményből származó mikrobák aktuális fiziológiai állapotától. ***A valós ismételhetőségi értékek csak üzemi mérések alapján határozhatók meg.***

Véletlen hiba meghatározása üzemi vizsgálatokkal

A *MICROTESTER* műszeres vizsgálatokat a FEJÉRVÍZ ZRT. Vívizsgáló Laboratórium Szennyvízvizsgáló részlegénél végeztük. A vizsgált minták mikrobaszámát szabványos módszerekkel a FEJÉRVÍZ ZRT. Vívizsgáló Laboratórium Ivóvízvizsgáló Részlegének Akkreditált Laboratóriuma határozta meg.

A vizsgálati módszerekre jellemző véletlen hiba meghatározása azonos minták vizsgálatával történt. A frissen behozott vízminták mikrobacsoportonkénti vizsgálatára a

két laboratóriumi részlegben azonos napokon került sor. A kalibrációs görbék a Szennyvíz-vizsgáló részlegben mért TTD értékek és az Ivóvízvizsgáló Laboratórium által meghatározott élősejtszámok felhasználásával szerkesztettük meg.

Tenyésztéses módszerek véletlen hibájának meghatározása

Az élősejtszámokat a módszerek által nyerhető telepszámok eloszlás-vizsgálata és relatív szórásának meghatározása érdekében a Laboratórium 50-50 párhuzamos vizsgálattal határozta meg. Az élősejtszám meghatározás membránszűréssel történt a minta előzetes hígítása után.

Műszeres mérés véletlen hibájának meghatározása

A műszeres élősejtszám meghatározásokhoz a mintából különböző mennyiségeket membránon (0,45 µm) leszűrtünk 3-3 párhuzamosban, és a szűrőlapokat szelektív táplevest tartalmazó mérőcellákba helyezve felvettük a kalibrációs görbékét.

A Műszeres és tenyésztéses eljárások véletlen hibájának összehasonlítása.

Az ismételhetőség becslésére szolgáló véletlen hibák értékét a 4. táblázatban foglaltuk össze.

A táblázatban a relatív szórások mellett azok matematikai statisztikai kiértékelése érdekében kiszámítottuk a tenyésztéses eljárások RSD_N értékéből az SD_{lgN} értékeket: $SD_{lgN} = \lg RSD_N$.

Az SD_{lgN} értékek már függetlenek a sejtszámtól, így velük a különbségek szignifikanciáját vizsgáló párosított t-próba elvégezhető. A mérésekből az *Enterococcus* adatokat kihagytuk, mert a vizsgált mintákból kalibrációs görbét nem sikerült szerkeszteni.

4. táblázat Műszeres és tenyésztéses élősejtszám véletlen hibáinak összefoglalása.
Szennyvíztelepi mérések

Mikrobacsoport	Műszeres mérés			Tenyésztés		
	SD _{IgN}	RSD _N	CV %	SD _{IgN}	RSD _N	CV %
Összcóra 22 °C	0,201	1,59	59	0,041	1,10	10
Összcóra 37 °C	0,267	1,85	85	0,072	1,18	18
<i>E. coli</i>	0,079	1,20	20	0,149	1,41	41
Kóliform	0,173	1,49	49	0,037	1,09	9
<i>Pseudomonas</i>	0,167	1,47	47	0,176	1,50	50

A két módszer közötti átlagos különbség: $SD_{IgN}(\text{műszer}) - SD_{IgN}(\text{tenyésztés}) = 0,0824$.

Ez azt jelenti, hogy a műszeres mérések véletlenhibája átlagosan $10^{0,0824} = 1,21$ -szer, azaz kb. 21 %-kal nagyobb, mint a tenyésztéses eljárások esetében. A különbség azonban a statisztikai próba szerint nem szignifikáns.

Az üzemi körülmények közötti vizsgálatok eredményeinek értékelése alapján levonható következtetés: ***A műszeres élősejtszám meghatározás véletlen hibája nem különbözik szignifikánsan a tenyésztéses módszerek véletlen hibájától.***

- **Reprodukálhatóság** a precizitás azon fajtája, amely reprodukálható körülmények között elvégzett kísérletekre vonatkozik (különböző laboratórium, azonos minta, azonos, vagy különböző módszer, különböző műszer, különböző kezelő, hosszabb időintervallum a párhuzamos mérések között).

Vizsgálólaboratóriumok módszereinek jellemzésére elsősorban a véletlen hibával kifejezett ismételhetség megadása szükséges.

Reprodukálhatóság meghatározása laboratóriumok közötti összehasonlító vizsgálatok alapján történik, erre jelenleg nincs lehetőség.

3.3.9. Zavartűrés (Robustness)

Egy analitikai eljárás zavartűrése a környezeti tényezők zavaró hatásával szembeni „ellenálló-képesség” mértéke. A redox-potenciál mérésen alapuló mikrobaszám meghatározási módszer legfontosabb környezeti paramétere a hőmérséklet, amely kettős hatást fejt ki:

- A mikroorganizmusok szaporodási sebessége erősen függ a hőmérséklettől.
- A mért redox-potenciál a Nernst-egyenletnek megfelelően függ a hőmérséklettől.

A méréseket a vizsgált mikroba vagy mikrobacsoport szaporodási optimumán végezve a szaporodási sebesség $\pm 0,5$ °C-os intervallumban nem változik. (Szuboptimális hőmérséklet-tartományban a szaporodási sebesség természetesen erősen hőmérséklet-függő.)

A hőmérséklet hatását a mérőrendszerben alkalmazott táplevesek redox potenciáljára kísérletileg határoztuk meg. A hőmérséklet-függés értékeit az 5. táblázat foglalja össze.

5. táblázat A hőmérséklet hatása a közeg redox-potenciáljára

Közeg	Hőmérséklet (°C)	$\Delta E/\Delta T$ (mV/°C)
Cetrimid leves	28 -45	-1.30
Azid leves	28 -45	-1.23
BLE leves	28 -45	-0,40

Mivel a detektációs kritérium általában 10 perces mérésközök esetén -10 mV/10 perc, a termosztálás $\pm 0,5$ °C-os hőingadozásának hatása elhanyagolható.

3.4. Ivóvíz vizsgálatok

Különböző helyekről származó vízminták előzetesen felvett kalibrációs görbék alapján történő sejtszám-meghatározásához a műszeres méréseket és a tenyésztéses élősejtszám-meghatározásokat a FEJÉRVÍZ ZRT. Vízvizsgáló Laboratórium Szennyvízvizsgáló részlegénél végeztük.

A műszeresen és tenyésztéssel meghatározott eredmények összehasonlítása

A hagyományos tenyésztéses és műszeres mérés eredményeit a 6. táblázatban foglaltam össze.

6. táblázat Üzemi mérések klasszikus és műszeres eredményeinek összefoglalása

<i>Mikrobacsoport</i>	<i>Tenyésztés</i>			<i>Műszeres mérés</i>		
	Időigény óra	N tke/100ml	lgN	Időigény óra	N tke/100ml	lgN
<i>Összesíra 22 °C</i>	72	2,0·10 ³	3,30	15	6,1·10 ³	3,79
<i>Összesíra 37 °C</i>	72	2,0·10 ³	3,30	11	1,0·10 ³	3,00
<i>E. coli</i>	24	4,5·10 ¹	1,65	7	4,5·10 ¹	1,65
<i>Kóliform</i>	24	4,9·10 ¹	1,69	9	4,9·10 ¹	1,69
<i>Enterococcus 1</i>	48	4,0·10 ²	2,60	12	9,0·10 ²	2,95
<i>Enterococcus 2.</i>	48	5,9·10 ³	3,77	11	2,5·10 ³	3,40
<i>Enterococcus 3.</i>	48	2,0·10 ³	3,30	12	1,1·10 ³	3,04

A két módszerrel meghatározott sejtszámok közötti különbség szignifikanciáját a mikrobaszám logaritmusok párosított t-próbájával vizsgáltuk. A két módszer közötti átlagos különbség: $\lg N(\text{műszer}) - \lg N(\text{tenyésztés}) = 0,014$. Ez azt jelenti, hogy a műszeres mérések átlagosan $10^{0,014} = 1,03$ -szor, azaz kb 3%-kal nagyobb sejtszámot adnak, mint a tenyésztéses módszerek. Ez ***a különbség azonban a statisztikai próba szerint nem szignifikáns.***

3.5. Ásványvíz vizsgálatok

Az ásványvíz vizsgálatokat a Coca Cola Beverages üzemi laboratóriumaiban végeztük részben Tylicz-ben (Lengyelország), részben Zalaszentgróton. A munka elsődleges célja Kóliformok, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* és *Enterococcus faecalis* gyors kimutatása volt. Valamennyi vizsgált mikroba null-toleráns (250 ml vizsgálati mintában nem lehet jelen).

Null-toleráns mikrobák műszeres mérésének alapvető problémája annak meghatározása, hogy mennyi ideig kell mérnünk ahhoz, hogy egyetlen élő mikroba sejtet ki tudjunk mutatni. Ezért először meghatároztuk az egy mikrobasejt kimutatásához szükséges vizsgálati időt.

A vizsgálati idő meghatározása a $TTD=f(\lg N)$ formában felvett kalibrációs görbékből történt. Az egyenes egyenletéből megállapítható az $N=1$ tke/cella ($\lg N=0$) kimutatásához szükséges idő. A vizsgálat baktériumok kimutatásához szükséges vizsgálati időket a 7. táblázatban foglaltam össze.

7. táblázat Baktériumok jelenlétének kimutatásához szükséges idők

Baktérium	A kalibrációs görbe tengelymetszete (t_{lgN0})	A tengelymetszet 99 %-os konfidencia intervalluma
<i>Escherichia coli</i>	10 h	9,72 -10,38 h
<i>Citrobacter freundii</i>	19,8 h	17,16 - 22,50 h
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21,6 h	20,45 – 22,79 h
<i>Enterococcus faecalis</i>	13,5 h	12,98 - 14,07 h

Az üzemi ellenőrző vizsgálatok első részét a Coca Cola tyliczi ásványvíz üzemének mikrobiológiai laboratóriumában végeztük.

Először 72 db palackozott ásványvíz mintát vizsgáltunk hagyományos módszerrel és műszeres méréssel. A hagyományos módszerrel végzett méréseket a laboratórium dolgozói végezték a következő módon:

3 x 250 ml ásványvizet szűrtek le egy membránszűrőn (45 μ m). A tenyésztést Tergitol agaron végezték 37 °C-on 48 óráig. Egy Petri-csészén 3 palack ásványvizet vizsgáltak.

A műszeres mérés a következő módon történt:

3 x 250 ml ásványvizet szűrtünk le egy membránszűrőn (45 μ m). Egy mérőcellába 4 membránt helyeztünk el. A mérést BLE levesben 37 °C-on végeztük. Egy mérőcellában 12 palack ásványvizet vizsgáltunk.

Valamennyi vizsgált minta negatív volt. A műszeres mérés nem eredményezett fals pozitív eredményt.

Ezután 66 db palackozott ásványvíz mintát vizsgáltunk hagyományos módszerrel és műszeres méréssel. Laboratóriumi mérés:

3 x 250 ml ásványvizet szűrtek le egy membránszűrőn (45 μ m). A tenyésztést Tergitol agaron végezték 37 °C-on 48 óráig. Egy Petri-csészén 3 palack ásványvizet vizsgáltak.

A műszeres mérés a következő módon történt:

3 x 250 ml ásványvizet szűrtünk le egy membránszűrőn (45 µm). Egy mérőcellába 3 membránt helyeztünk el. A mérést BLE levesben 37 °C-on végeztük. Egy mérőcellában 9 palack ásványvizet vizsgáltunk.

Valamennyi vizsgált minta negatív volt. A műszeres mérés nem eredményezett fals pozitív eredményt.

A további üzemi ellenőrző vizsgálatokat a Coca-Cola zalaszentgróti ásványvíz üzeme mikrobiológiai laboratóriumának munkatársai végezték és bocsátották rendelkezésemre.

Az üzemben egy éven keresztül mérték a Kóliformok, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, és Enterococcusok számát egyidejűleg szabványos módszerekkel és *MICROTESTER* berendezéssel, úgy hogy 500 ml-es ásványvizes palackok tartalmának egyik felét szabványos módszerekkel, másik felét redox-potenciál méréssel vizsgálták. Az eredményeket a 8. táblázat foglalja össze.

8. táblázat Üzemi vizsgálatok eredményei (Hoffmanné és Tar-Géri, 2008).

Vizsgált mikroba	Összes mérés (db)	Egyező eredmény a szabványos és redox vizsgálatok között (%)	Fals pozitív eredmény (%)	Fals negatív eredmény (%)
<i>Escherichia coli</i>	942	99,89	0,11	0,00
<i>Kóliform</i>	4674	99,87	0,00	0,13
<i>Enterococcus</i>	3000	99,93	0,00	0,07
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3372	99,82	0,06	0,12

3.6. Új tudományos eredmények

A mikrobaszám redox-potenciál mérésre alapozott új vizsgálati módszerének kifejlesztéséhez kapcsolódóan az eljárás mikrobiológiai megalapozásához és ipari alkalmazásához szükséges vizsgálatokat végeztem. A vizsgálatok során

- Meghatároztam az élelmiszeripari szempontból fontos mikroorganizmusok szaporodási redox-görbéit.
- Bizonyítottam, hogy a szaporodási redox-görbéből minden vizsgált mikroba esetében meghatározható egy detektációs kritérium, amelynek alapján detektációs idő állapítható meg.
- Bizonyítottam, hogy a detektációs idő és a kezdeti mikrobaszám logaritmusában szoros, lineáris kapcsolatban van egymással, lehetővé téve a mikrobaszám meghatározására alkalmas kalibrációs görbe felvételét. Az általam meghatározott kalibrációs görbék a továbbiakban alapul szolgáltak az üzemi kísérletekhez és a gyakorlati alkalmazáshoz.
- A redox-potenciál mérési módszert MPN jellegű kiértékeléssel kombinálva, bizonyítottam, hogy az új eljárás ismeretlen mikroflórájú minta legvalószínűbb mikrobaszámának becslésére előzetesen felvett kalibrációs görbe nélkül is alkalmas. (Kezelt szennyvíz kóliform- és összes mikrobaszámának, felületi higiéniai minták enterobaktérium- és összes mikrobaszámának értékelése.)
- A mérési eljárás vízvizsgálatokra vonatkozó validálása során vízvizsgálatokra vonatkozóan meghatároztam a módszer teljesítmény-jellemzőit.
- A módszer ipari körülmények közötti alkalmazhatóságát ásványvíz üzemen és vízmű-telepen végzett mérésekkel igazoltam.

4. KÖVETKEZTETÉSEK

A redox-potenciál mérésre alapozott mérési eljárás és kialakított berendezés nagyon hatékony eszköznek bizonyult a mikroorganizmusok számának gyors meghatározására. Vizsgálati eredményeim alapján az alábbi következtetéseket vontam le.

- Baktériumok szaporodása során a tápközeg redox-potenciálja minden esetben, függetlenül a baktérium légzési típusától (aerob, fakultatív anaerob, aerotoleráns anaerob, obligát anaerob) csökken. A redox-potenciál csökkenése a *MICROTESTER* berendezéssel jól követhető.
- A redox-görbe alakja jellemző az egyes mikrobacsoportokra, a görbe alakját az alkalmazott táptalaj, a mérőcella mérete, vagy formája, a mikroorganizmus hordozóra rögzítése (membránszűrő lap) lényegesen nem befolyásolja.
- A módszer szelektivitása a felhasznált táptalajok szelektivitásától függ, különös előnyt jelent, hogy a redox-görbe alakja segítséget nyújt a mikroba-csoport azonosításához.
- Minden mikrobára meghatározható egy detektációs kritérium. A detektációs kritérium mikroba-csoportonként jellemző érték.
- A detektációs idő szoros lineáris kapcsolatban van a kezdeti mikrobaszám logaritmusával, így minden mikrobára felvehető a kalibrációs görbe ($\lg N - TTD$ összefüggés), amelynek alapján a cellában lévő mikroorganizmusok kezdeti száma a TTD értékből kiszámítható.
- Mivel a mikrobaszám meghatározási ideje a kezdeti sejtszámtól függ, nagy mikrobiális szennyezés (pl. az ivóvíz szennyvízzel való keveredése esetén) rendkívül gyorsan (néhány óra alatt) kimutatható. A mérési idő membránszűrés alkalmazásával lényegesen rövidíthető. A módszer különösen alkalmas az ivóvíz hirtelen szennyeződésének (havária) gyors detektálására.
- A eljárás víz mikrobiológiai vizsgálatára történt sikeres validálása valószínűsíti annak lehetőségét, hogy módszert más élelmiszerek (pl. nyerstej) vizsgálatára is alkalmazhatjuk.

- Null-toleráns mikrobák vizsgálatakor meghatározható az egyetlen sejt kimutatásához szükséges idő, amely a hagyományos eljárások 48 órájával szemben csupán 12-24 óra. A szennyező mikroorganizmusok gyors kimutatására a berendezés üzemi alkalmazása során – nagyszámú minta vizsgálata alapján - megfelelőnek bizonyult.
- A redox-potenciál mérésen alapuló mikrobaszám meghatározás a hagyományos élősejtszám meghatározási módszereknél lényegesen gyorsabb, a lecsökkent időigény miatt az eredmények a technológiába (pl. palackozott víz gyártása során) visszacsatolhatók, a fertőzött tételek okozta kockázatok jelentősen csökkenthetők.

5. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBŐL KÉSZÜLT PUBLIKÁCIÓK

Angol nyelvű közlemények lektorált folyóiratokban

- Reichart O., Nagy B., Jozwiak Á., **Szakmár K.** (2007): Rapid method for selective enumeration of '*Bifidus essensis*' in Activia yogurts. *Acta Alimentaria*. 36. (2) 173-183.
- 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. *International Journal of Food Microbiology* 114, 143-148.

Angolul is referált magyar nyelvű közlemények

- Reichart O., **Szakmár K.** (1988): A redoxpotenciál hatása mikroorganizmusok hőpusztulására I. *Élelmezési Ipar XLII. (5)* 168-172.
- Szakmár K.**, Reichart O., Vincze I. (1988): A redoxpotenciál hatása mikroorganizmusok hőpusztulására II. Penészgombák hőpusztulása a közeg rH-jának függvényében. *Élelmezési Ipar XLII. (8)* 281-285.
- Szakmár K.**, Reichart O., Balogh I. (1988): A redoxpotenciál hatása mikroorganizmusok hőpusztulására III. *Élelmezési Ipar XLII. (11)* 416-419.
- Reichart O., **Szakmár K.** (1988): A redoxpotenciál hatása mikroorganizmusok hőpusztulására IV. Baktériumok hőpusztulása a közeg rH-jának függvényében. *Élelmezési Ipar XLIII. (4)* 142-146.
- Szakmár K.**, Reichart O., Erdősi O., Fekete Z. (2009): Redox-potenciál mérésen alapuló gyorsmódszer nyerstej mikrobaszámának meghatározására. *Magyar Állatorvosok Lapja* 131. 365-372.

Magyar nyelvű közlemények

- Szakmár K.**, Reichart O. (1985): Az rH hatása néhány hőrezisztens penészgomba szaporodására. *Konzerv és Paprikaipar* 1. 15-17.

Konferencia kiadványok, összefoglalók

- Szakmár K.**, Reichart O. (2008.) Redoxpotenciál mérésen alapuló gyors mikrobiológiai módszer alkalmazása élelmiszeripari minták vizsgálatára. XVI. Élelmiszer Minőségellenőrzési Tudományos Konferencia. Április 24-25, 2008. Tihany. 290-298.
- Reichart, O., Farkas, J., **Szakmár K.**, Beczner, J., Andrassy, É., Bata-Vidács I. (2007) Automatic monitoring the redox potential for growth/death modelling and data gathering on bacterial contamination with low cell numbers. Proceeding of 5th international conference predictive modelling in foods. September 16-19, 2007. Athens-Greece. 393-396.

- Jozwiak Á., Reichart, O., **Szakmár K.** (2005) Redox potential measurement as a rapid method for heat destruction experiments of *Campylobacter jejuni*. (Abstract). 1st Central European Forum for Microbiology. October 26-28, 2005. Keszthely, Hungary. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 52, 2005, Supplement. p. 62-63.
- Szakmár K.**, Reichart, O., Jozwiak Á. (2005) Microbiological inspection of mineral water by redox-potential measurement. (Abstract). 1st Central European Forum for Microbiology. October 26-28, 2005. Keszthely, Hungary. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 52, 2005, Supplement. p. 149-150.
- Jozwiak Á., Reichart, O., **Szakmár K.** (2006) The effect of water activity on the survival of *Campylobacter jejuni*. (Abstract). Annual Meeting of the Hungarian Society for Microbiology. October 18-20, 2006. Keszthely, Hungary. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 53, 2006, Supplement. p. 282.
- Szakmár K.**, Reichart, O., Jozwiak Á. (2006) Microbiological quality control of food industrial samples by redox-potential measurement. (Abstract). Annual Meeting of the Hungarian Society for Microbiology. October 18-20, 2006. Keszthely, Hungary. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 53, 2006, Supplement. p. 342.