

NYUGAT-MAGYARORSZÁGI EGYETEM  
MEZŐGAZDASÁG- ÉS ÉLELMISZERTUDOMÁNYI KAR  
ÉLELMISZERTUDOMÁNYI INTÉZET

Ujhelyi Imre Állattudományi Doktori Iskola

Doktori Iskola-vezető:

Dr. Benedek Pál DSc  
egyetemi tanár

**Az állati eredetű termékek feldolgozása és minőségbiztosítása program**

Programvezető:

Dr. habil. Szigeti Jenő CSc  
egyetemi tanár

Tudományos vezetők:

Dr. habil. Szigeti Jenő CSc  
egyetemi tanár

Dr. Ásványi Balázs PhD  
egyetemi adjunktus

**KACSAMÁJ KÉSZÍTMÉNYEK HŐKEZELÉSÉNEK  
OPTIMALIZÁLÁSA**

Készítette:

**SIPOS-KOZMA ZSÓFIA**

Mosonmagyaróvár

2010

# KACSAMÁJ KÉSZÍTMÉNYEK HŐKEZELÉSÉNEK OPTIMALIZÁLÁSA

Írta:  
SIPOS-KOZMA ZSÓFIA

Készült a Nyugat-magyarországi Egyetem  
Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar  
Ujhelyi Imre Állattudományi Doktori Iskola  
Az állati eredetű termékek feldolgozása és minőségbiztosítása programja keretében

Témavezetők: Prof. Dr. habil. Szigeti Jenő CSc., Dr. Ásványi Balázs, PhD.

Elfogadásra javaslom (igen / nem)

(aláírás)

A jelölt a doktori szigorlaton.....% -ot ért el,

Mosonmagyaróvár,.....

.....  
a Szigorlati Bizottság elnöke

Az értekezést bírálóként elfogadásra javaslom (igen /nem)

Első bíráló (Dr. Csapó János DSc) igen /nem

(aláírás)

Második bíráló (Mohácsiné Dr. Farkas Csilla PhD) igen /nem

(aláírás)

A jelölt az értekezés nyilvános vitáján.....%-ot ért el

Mosonmagyaróvár,.....

.....  
a Bírálóbizottság elnöke

A doktori (PhD) oklevél minősítése.....

.....  
Az EDT elnöke

---

**TARTALOMJEGYZÉK**

KIVONAT	5
ABSTRACT	6
1. BEVEZETÉS, CÉLKITŰZÉS	7
1.1. Bevezetés	7
1.2. Célkitűzések	8
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	10
2.1. Víziszárnyas ágazat helyzete	10
2.2. Hízott máj előállítás	12
2.2.1. Májminőségi jellemzők	14
2.3. A félkonzervekben előforduló mikroorganizmusok jellemzése	17
2.3.1. <i>Enterococcus</i> nemzetség jellemzése	17
2.3.2. <i>Clostridium</i> nemzetség jellemzése	18
2.4. A spórázás folyamata	24
2.4.1. Az endospóra jellemzése	24
2.5. Konzervek és félkonzervek tartósítása hőkezeléssel	26
2.5.1. A mikroorganizmusok hőpusztulása	27
3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	31
3.1. Mikrobiológiai vizsgálati módszerek	31
3.2. Telepszámlálós módszerek eredményeinek értékelése	37
3.3. Mikroorganizmusok hőtűrésének vizsgálata	38
3.3.1. A kísérletbe bevont törzsek felélesztése	38
3.3.2. Spóráztatás	39
3.3.3. Hőtűrés vizsgálatok	42
3.4. Kacsamáj félkonzerv termékfejlesztése	43
3.5. Hőkezelési paraméterek meghatározása	44
3.6. A kiértékelésben alkalmazott matematikai-statisztikai módszerek	46
4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSŰK	47
4.1. Kacsamáj mikrobiológiai vizsgálatának eredményei	47
4.2. <i>Clostridium</i> spóráztatási kísérletek	49
4.2.1. <i>Clostridium perfringens</i> spóráztatásának eredménye	49
4.2.2. <i>Clostridium sordellii</i> spóráztatásának eredménye	50
4.3. Hőtűrés vizsgálatok eredményei	50
4.3.1. <i>Clostridium perfringens</i> NCTC 1265 hőtűrés vizsgálatának eredménye	50
4.3.2. <i>Clostridium sordellii</i> ATCC 9714 hőtűrés vizsgálatának eredménye	52
4.3.3. <i>Enterococcus faecalis</i> HNCMB 80171 hőtűrés vizsgálatának eredménye	54

## Tartalomjegyzék

---

4.4.	Hőkezelési paraméterek meghatározása	56
4.5.	Kacsamáj félkonzerv kifejllesztése	61
4.6.	A kacsamáj félkonzervvel végzett hőkezelési kísérlet mikrobiológiai eredményei	64
4.6.1.	<i>Clostridium perfringens</i> NCTC 1265 spóraszámának alakulása kacsamáj félkonzervben	64
4.6.2.	<i>Clostridium sordellii</i> ATCC 9714 spóraszámának alakulása kacsamáj félkonzervben	66
4.6.3.	<i>Enterococcus faecalis</i> HNCMB 80171 hőtűrésének vizsgálata kacsamáj félkonzervben	68
4.6.4.	Kacsamáj félkonzerv hőkezelési paramétereinek meghatározása	70
4.6.5.	Relatív pusztulási sebesség és relatív pusztulási idő meghatározása a vizsgált törzsek esetében	73
4.6.6.	Hőtűrési vizsgálatok összehasonlítása	74
5.	KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK	79
6.	ÖSSZEFOGLALÁS	82
	ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	86
	AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN ÍRT TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK, ELŐADÁSOK	88
	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	90
7.	IRODALOMJEGYZÉK	91
	MELLÉKLET	107

# KACSAMÁJ KÉSZÍTMÉNYEK HŐKEZELÉSÉNEK OPTIMALIZÁLÁSA

## KIVONAT

A hízott víziszárnyas máj előkelő helyet foglal el az úgynevezett hungarikumok sorában, azonban a víziszárnyas májak minőségromlása miatt veszélybe kerülhet ennek exportálása. Felmértem hazai nyers kacsamájak mikrobiológiai-higiéniai állapotát. Összehasonlítottam különböző spóráztató táplevesek hatékonyságát két *Clostridium perfringens* (NCAIM-B-01417 és NCTC 1265) és egy *Clostridium sordellii* ATCC 9714 törzs esetében. Hőtűrési vizsgálatokkal meghatároztam mind modell tápközegben, mind pedig kacsamáj félkonzervben a *Clostridium perfringens* NCTC 1265, a *Clostridium sordellii* ATCC 9714 endospóráinak és az *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 sejtjeinek hőkezelési paramétereit. Megállapítottam azon optimális hőkezelési hőmérsékletet, amellyel a vizsgált fajok esetében legalább két nagyságrendnyi spóra-, illetve sejtszám csökkenés érhető el. Részt vettem egy speciális ízesítésű kacsamáj terrine gyártástechnológiájának kidolgozásában.

## OPTIMIZATION OF HEAT TREATMENT PARAMETERS FOR DUCK LIVER PRODUCTS

### ABSTRACT

Foie gras from fattened waterfowl liver is regarded as a Hungarian specialty in many countries; however, there is a downward tendency in the quality of these products, which poses a threat to their export competitiveness. The microbiological and hygienic properties of domestically produced raw duck livers were studied in this research. The suitability of various sporulation broths for induction of sporulation by different strains of *Clostridium perfringens* (NCAIM B.01417 and NCTC 1265) and *Clostridium sordellii* ATCC 9714 was tested. Subsequent trials were then performed to determine, in both culture media and semi-preserved duck liver products, the thermal destruction parameters of the following microorganisms: endospores of *Clostridium perfringens* NCTC 1265 and *Clostridium sordellii* ATCC 9714, and vegetative cells of *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171. Optimum heat treatment parameters resulting in a decrease of over 2 log<sub>10</sub> cycles in spore and cell counts of the strains tested were established. The author took part in developing a technology of manufacture for a specially flavored duck liver terrine.

## 1. BEVEZETÉS, CÉLKITŰZÉS

### 1.1. Bevezetés

A „foie gras” néven ismert hízott liba- és kacsamáj előállítás volumene erősen emelkedik, de a termelés csak néhány országra koncentrálódik. Az elmúlt években a világ 18-19 ezer tonnás termeléséből Franciaország részesedett a legnagyobb, mintegy 80%-os részaránnyal. Magyarország kacsatermelésben a második helyen áll, a libamájtermelésben pedig az első helyet foglalja el.

A hízott víziszárnyas máj előkelő helyet foglal el az úgynevezett hungarikumok sorában. Az évente termelt 1800-1900 tonna libamáj és a 750-800 tonna kacsamáj 85-90%-át exportáljuk. A legnagyobb vásárlónk Franciaország, a teljes export 70%-a kerül erre a piacra.

Néhány éven belül komoly veszélybe kerülhet a magyar víziszárnyas májak eladása a franciaországi kereslet csökkenése következtében. A csökkenés egyik oka lehet a magyar víziszárnyas májak mikrobiológiai romlása, mivel a hazai víziszárnyas májak grammonként átlagban 8-10, a francia májak viszont grammonként csak 1-2 *Clostridium* spórát tartalmaznak (Centre De Recherche Appliquée En Agro-Alimentaire, 1999). Ez az eltérő bontási technológiával magyarázható, mivel Franciaországban melegbontásos, hazánkban pedig hidegbontásos technológiát alkalmaznak a víziszárnyas májak eltávolítására.

További probléma, hogy a nemzetközi (elsősorban a francia) piacon nem rendelkezünk saját májkészítményekkel, ezért az importőrök csak az előhűtött nyers kacs- és libamájat vásárolják meg hazánkban. A külföldi gyártók nyers májból minimális továbbfeldolgozás után, annak vételi árát többszörösen meghaladó eladási áron értékesíthető hőkezelt készítményeket

állítanak elő. A még kis volumenű hazai készítménygyártás esetében a hőkezelés a mikroorganizmusok elpusztításának egyik módszere, de fontos számunkra, hogy mikrobiológiai szempontból megfelelő máj-alapanyagot biztosítsunk, betartsuk a termelés során a jó gyártási-, illetve higiéniai gyakorlatot.

A hőkezelt készítmények között megtalálhatók a teljes, vagy valódi konzervek, az enyhébben hőkezelt ún. háromnegyed-, vagy félkonzervek. Az utóbbiakban mikroorganizmusok maradhatnak életben, és korlátozott ideig is csak konzerválószerrel és/vagy hűtéssel tarthatók el. A félkonzervek túlélő mikroflórájában előfordulhatnak az aerob (*Bacillus* nemzetség) és anaerob (*Clostridium* nemzetség) spóráképző baktériumok, a nem spórák közül egyes hőtűrőbb *Lactobacillus*-ok, az *Enterococcus*-ok, valamint *Micrococcus* fajok. A víziszárnyas májakban előforduló és a korábbiakban már említett *Clostridium* spórák hőtűrő képességének vizsgálata a hőkezelt készítmények esetében döntő jelentőségű. Saját vizsgálatok és irodalmi adatok alapján a *Clostridium perfringens* és a *Clostridium sordellii* spórák hőtűrő képességének vizsgálatát tartottam döntő jelentőségűnek.

## **1.2. Célkitűzések**

Dolgozatom készítésekor célkitűzéseim a következők voltak:

1. A felhasznált kacsamáj mikrobiológiai állapotának meghatározása és összevetése a 4/1998 EüM rendelet (hatályos: 2007.11.06.) előírásaival.
2. Irodalmi adatok és saját vizsgálatok alapján meghatározni nyers hízott kacsamáj jellemző leghőtűrőbb mikroorganizmusait, illetve előfordulásuk gyakoriságát.
3. Táplevesek kiválasztása *Clostridium perfringens* (NCAIM-B-01417 és NCTC 1265) és *Clostridium sordellii* ATCC 9714 törzsek optimális spórátermeléséhez, valamint egy *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 törzs



legintenzívebb szaporodásához. Spóráztatási kísérletek segítségével kiválasztani a nagyobb mennyiségben spórát termelő *Clostridium perfringens* törzset.

4. Előzetes vizsgálatok alapján meghatározni 100 °C alatti hőmérsékleten az optimális hőkezelési hőmérsékletet és hőntartási időt, egyrészt a leghőtűrőbb nem spórás ubiquiter mikroflóra vezéralakjának az *Enterococcus faecalis*-nak és a félkonzerv, illetve a *Clostridium* fajok esetében a háromnegyed vagy teljes konzerv előállításához.

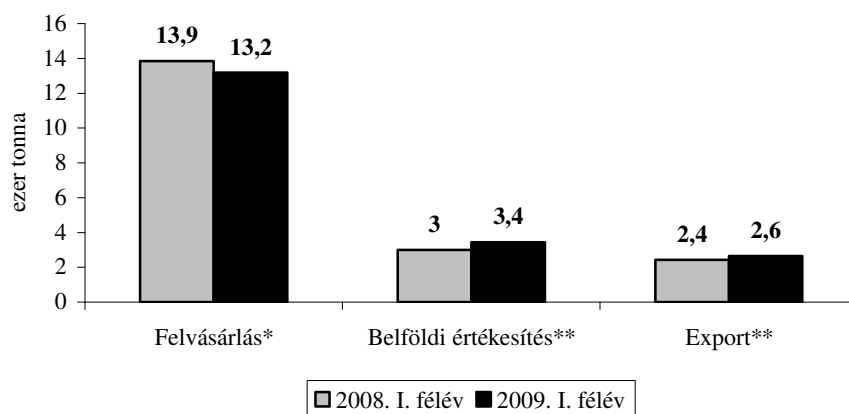
5. A hazai és a nemzetközi termékpalettát alapul véve egy kacsamáj félkonzerv gyártástechnológiájának kidolgozása.

6. Mesterségesen, mikrobákkal (*Clostridium* és *Enterococcus* fajok) befertőzött kacsamáj félkonzervben hőpusztítási vizsgálatok elvégzése.

## 2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

### 2.1. *Víziszárnyas ágazat helyzete*

A víziszárnyas termékek előállításának Magyarországon régi hagyománya van. Hungarikumnak számító termék a libamáj, a libatoll és egyes víziszárnyas húskészítmények. Az exportorientált víziszárnyas ágazat nemzetgazdasági szempontból fontos terület, tradicionális, magas értékű speciális magyar termékekkel. A pecsenyeliba, a húsliba, a hízott lúd, a pecsenyekacsa, továbbá a hízott kacsa egészben vagy testtájankénti kiszereelésben és a nyers máj, illetve májkészítmények sok évtizede keresettek Nyugat-Európa meghatározott piacain. Németországban elsősorban a víziszárnyas hústermékek, míg Franciaországban a hús és máj. Az utóbbi években a világpiacon konkurenciaként jelent meg Lengyelország, valamint Kína és a távol-keleti országok. A lengyel húsliba-termelés felfutása számunkra jelentős piacvesztést eredményezett. A világ teljes termelésének közel 90%-a Délkelet-Ázsiában és Kínában folyik, sajátos fajtákkal és körülményekkel (url<sup>1</sup>). Magyarország liba- és kacsahús felvásárlási, valamint értékesítési adatait az **1. és 2. ábra** szemlélteti.



\* élősúly

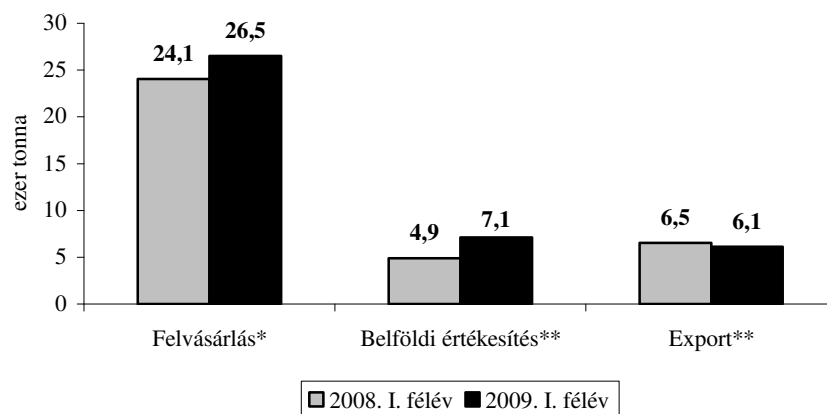
\*\* vágott súly

### 1. ábra A libahús felvásárlás és értékesítés alakulása Magyarországon

**Forrás:** Baromfi Termék Tanács

Az **1. ábra** adataiból látható, hogy a 2009. év első félévében 13 ezer tonna körüli (-5 %) libahúst vásároltak fel Magyarországon, míg a belföldi értékesítés 3,4 ezer (+15 %), az export 2,6 ezer tonnára (+9 %) bővült, a 2008. év első félévéhez képest.

A *Baromfi Termék Tanács* adatai alapján elmondható, hogy a 2009. év első félévében 26,5 ezer tonna kacsahúst vásároltak fel hazánkban, ami 10%-kal több mint a 2008. év azonos időszakában. A belföldi értékesítés volumene 46%-kal nőtt, míg az export 6%-kal esett vissza (**2. ábra**).



\* élősúly

\*\* vágott súly

**2. ábra** A kacsahús felvásárlás és értékesítés alakulása Magyarországon

**Forrás:** Baromfi Termék Tanács

## 2.2. Hízott máj előállítás

A hazai hízott máj előállítás rendszere a 25-30 éve kialakult hagyományos, 4-6 óránkénti töméses hízalás (Bogenfürst, 1992). A tömési idő hossza a technológiától függ. A tömési ciklus hossza 14 naptól 21 napig változhat. Aggodalomra adhat okot, hogy míg Franciaországban 10 napos tömés után a májtömeg libánál 700-750 g, kacsánál 650 g, addig hazánkban ez 300-400 g körül alakul (Locsmándi, 2007).

Korábban a tömők a rendszeres napi 4-6 tömés megkezdése előtt kénytelenek voltak hozzászoktatni a madarakat a kényszeretetéshez és a nagy mennyiségű takarmány egyszeri befogadásához. Ez nem minden egyednél váltotta be a hozzá fűzött reményeket, és eltérő minőségű májakat eredményezett, köszönhetően annak, hogy a májtermelésre kiválóan alkalmas fajták egyed szinten eltérő technológiatűrést mutatnak. Ebből a problémából kiindulva fejlesztették ki a tömés-előkészítés technológiáját (pregavage), amit

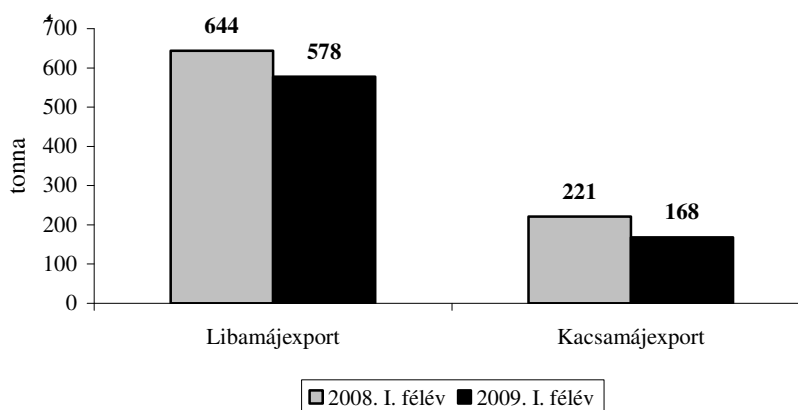
a felnevelés szakaszába illesztenek. A töméselőkészítés (pregeavage) eredményeképpen kitágul az állatok nyelőcsőve, növekszik a felvett takarmány mennyisége, az emésztést segítő enzimatikus folyamatok gyorsulnak, a máj elzsírosodása elkezdődik, továbbá kiegyenlítettebbé válik a májtömeg, egyúttal javul annak minősége. További előny, hogy kisebb a tömés alatti ráhízás, ami azt jelenti, hogy elsősorban a máj tömege gyarapodik és nem a perifériás zsírdepóké. A tömés-előkészítés következtében a tömés hatékonyabbá és kíméletesebbé vált, valamint rövidebb idő alatt elvégezhető (Bogenfürst, 2000).

Az állatvédő mozgalmak fokozódó aktivitása miatt 2011-ig be kell szüntetni a kényszeretetéses májtermelést (Tóásó *et al.*, 2006). Az alternatív technológiák alapját képező ún. „öntömés” iránti igény nem újkeletű, hiszen már a hetvenes években is próbálták kideríteni a máj elzsírosodásában betöltött szerepét (Aufroy *et al.*, 1970; Felix *et al.*, 1980; Marcilloux *et al.*, 1985).

Az alternatív technológiák alapja az, hogy a madarak gyakorlatilag „önmagukat tömve” egyre rövidebb etetési idő alatt egyre több takarmányt vesznek fel. A módszer lényege az időben korlátozott szakaszos etetési rendszer, amelynek hatására növekszik az önkéntes takarmányfelvétel. Általában a felnevelés hatodik hete után indul a program, amelynek hossza nyolc hét. A teljes időtartamból a madarak 46 napig korlátozott idő alatt veszik fel a takarmányt, az utolsó 10 napban pedig ad libitum fogyasztanak. Ez az utolsó 10 nap biztosítja a máj jelentős elzsírosodását (Locsmándi, 2007).

### 2.2.1. Májminőségi jellemzők

Magyarország lúd- és kacsahús termelés vonatkozásában jelentős szerepet tölt be, azonban a fő hangsúly a májtermelésre helyeződik. A *Baromfi Termék Tanács* adatai alapján az első félévben 578 tonna liba- és 168 tonna kacsamájat exportált Magyarország; előbbi 10, utóbbi 24%-kal maradt el a 2008. év azonos időszakától (**3. ábra**).



**3. ábra** Magyarország liba- és kacsamáj exportja

**Forrás:** Baromfi Termék Tanács

A májról – leválasztás után – a májkapuba futó ereket, a savós hártályakat, az epehólyag okozta elszíneződést, valamint a máj két lebenye közötti hájat el kell távolítani. A nyers liba-, illetve kacsamáj felülete tiszta, idegen íztől és szagtól mentes. Iparilag feldolgozni, a kereskedelem részére szállítani csak olyan nyers kacsamájat szabad, amelyet a hatóság a húsvizsgálat során fogyasztásra feltétel nélkül alkalmasnak talált.

A zsigerelt nyers liba- és kacsamáj főbb májminőségi paramétereit az **1. - 2. táblázat** szemlélteti.

**1. táblázat** A friss, jegelt (nyers) libamáj osztályozása

Minőségi jellemzők	Állomány	Szín	Épség*	Tömeg legalább, g
Minőségi osztály	Követelmények			
I.	Gittszerű tapintású, a benyomott ujj a helyét megtartja.	Világos krémszínű.	Legfeljebb 5,0% (m/m) 5 mm mély és 5 cm hosszú tok- és állományszakadt máj.	400
II.	Az I. osztályú terméktől abban különbözik, hogy a kislebény alsó része tömöttebb lehet.	Az I. osztályú terméktől abban különbözik, hogy kisebb felületi, az alapszínétől kissé elütő (sötétebb színű) folt lehet rajta.	Legfeljebb 10,0% (m/m) 5 mm mély és 5 cm hosszú tok- és állományszakadt máj.	350
III.	Az I. osztályú terméktől abban különbözik, hogy szívósabb tömöttebb lehet.	A mélyárgától a sötétebb krémszínig terjedhet, a terület 1/3-án foltokban lehet világosbarna színváltozás.	Legfeljebb 10,0% (m/m) 5 mm mély és 5 cm hosszú tok- és állományszakadt máj. Mennyiségi korlátozás nélkül fél máj és zsírmáj.	250
IV.	Érettségétől független. Tömött, szívós vagy laza szerkezetű (pacalmáj).	A világos krémszíntől a sötétbarna (vörös) árnyalatig.	Mennyiségi korlátozás nélkül fél máj és faragott máj. Közfogyasztásra és ipari feldolgozásra alkalmas.	
Tárolás: 0-4 hőmérsékleten				

\*Tételenként megengedett hibák

**Forrás:** Magyar Élelmiszerkönyv 2-13

**2. táblázat** A friss, jegelt (nyers) kacsamáj osztályozása

Minőségi jellemzők	Állomány	Szín	Épség	Alak	Tömeg legalább, g
Minőségi osztály	Követelmények				
I.	Megfelelő kissé puha, kissé téztás tapintású.	Az I. osztályú terméktől abban különbözik, hogy kisebb felületi, az alapszínétől kissé elütő (sötétebb színű) folt lehet rajta.	Sérülésmentes ép, legfeljebb 5 mm mély repedések, szakadások előfordulása meg van engedve, a felület 1/10 részén.	Nem arányosan fejlett lebenyek. A nagylebeny vége kiszélesedő.	300
II.	Ua. mint az I. o.	Ua. mint az I. o., de 1/10 részén barnás színváltozás meg van engedve.	U.a. mint az I. o.		280
III.	Lazább szerkezetű a nagylebeny és a kislebeny vége szívósabb, rugalmasabb tapintású.	Sötétebb okkersárgás, sárgásbarna színű.	Ua. mint a II. o., ebbe az osztályba kerülnek a nagymértékben megfaragott májak.	Erősen ellaposodó nem arányosan fejlett lebenyek.	180
IV.	Érettségétől független. Tömött, szívós vagy laza szerkezetű.	A sötétebb okkersárgától, a világosbarna és a rozsdabarna színáryalatig.	Előírás nélküli (zúzódot, elszíneződött, faragott fél májak ebben az osztályban meg vannak engedve).		180 g alatti tömegű
Tárolás: 0-4 hőmérsékleten					

**Forrás:** Magyar Élelmiszerkönyv 2-13

A hizott baromfi májának minőségét elsősorban az határozza meg, hogy a felhalmozódott zsírt sütés közben mennyire képes megtartani. Ez a tulajdonság a pástétom-készítés folyamán sem elhanyagolható, mivel a konzervsterilizésnél fellépő magas hőmérsékleten a zsír jelentős része kiolvadhat. A jelenség nem kívánatos, mert a felszínen összegyűlt zsírréteg a termék minőségét rontja (Bogenfürst, 1999). A **3. táblázatban** a víziszárnyasok májának beltartalmi jellemzői láthatók.



**3. táblázat** Néhány víziszárnyas faj kihízalt májának beltartalmi jellemzői

Genotípus	Élőtömeg (g)	Májtömeg (g)	A máj összetevőinek aránya (%)				
			Lipidek	Víz	Fehérje	Hamu	Egyéb anyagok
Landeszi lúd	7427±653	768±143	54,6±4,3	32,7±3,0	18,3±0,9	0,7±0,1	3,7
Mulardkacsa	6513±433	677±123	60,5±4,4	28,5±3,4	6,9±1,0	0,6±0,1	3,5
Pézsmaréce	6483±497	533±55	62,6±1,8	27,4±1,8	6,4±0,6	0,5±0,1	3,1

**Forrás:** Bogenfürst, 1999

### 2.3. A félkonzervekben előforduló mikroorganizmusok jellemzése

A 4/1998 EüM rendelet (Az élelmiszerekben előforduló mikrobiológiai szennyeződések megengedhető mértékéről) alapján a félkonzerv légmentesen zárt csomagolású, hőkezeléssel csak olyan mértékben tartósított termék, amely hűtőtárolást igényel és korlátozott eltarthatósági idejű. Megfelelő a félkonzerv, ha nem tartalmaz kórokozó mikroorganizmust, mikroorganizmus által termelt mérgeanyagot, *Enterobacteriaceae* csoportba tartozó mikrobát, fonalas, vagy sarjadzó gombát. A szulfitredukáló *Clostridium* szám legfeljebb 10/g határértékig tűrhető meg. A szaporodó aerob spórások a 10<sup>3</sup>/g mikrobaszámot nem érhetik el. A félkonzervek túlélő mikroflórája között előfordulhatnak az aerob és anaerob spórások (*Bacillus* és *Clostridium* spórák), *Lactobacillus*-ok, a *Micrococcus* nemzetség hőtűrőbb tagjai és az *Enterococcus*-ok (Deák *et al.*, 1980).

#### 2.3.1. *Enterococcus* nemzetség jellemzése

Az *Enterococcus*-ok (*Ec.*) egyrészt, mint indikátor mikrobák, másrészt, mint ételmérgezést előidéző baktériumok egyaránt jelentősek. Az

*Enterococcus*-ok a *Streptococcaceae*-családba, ezen belül pedig a Lancefield-féle D-szerológiai csoportba tartozó Gram-pozitív, kokkusz alakú, rövid (rendszerint 2-6 tagú) láncokban fejlődő, a láncok irányában kicsit megnyúlt, 0,5-1 µm átmérőjű, kataláz-negatív, véres agaron általában hemolizáló olyan mikroorganizmusok, amelyek megfelelnek a Sherman-féle kritériumoknak (MSZ 3640/13-1976), ennek megfelelően:

- képesek fejlődni +10 és +45 °C közötti hőmérsékleten
- túlélnek a 60 °C hőmérsékleten végzett 30 perces hőkezelést
- 6,5% konyhasót tartalmazó tápoldatban, illetve
- pH 9,6 mellett, továbbá
- 0,1% metilénkéket tartalmazó tejben, valamint 40% epét tartalmazó véres agaron jól fejlődnek.

Az *Ec. faecalis*-t izolálták csirke mintákból baromfi vágóhídon, valamint marha-, baromfi- és sertés hasított testéről (Turtura és Lorenzelli, 1994; Klein *et al.*, 1998; Davis és Roberts, 1999; Borgen *et al.*, 2001; Aarestrup *et al.*, 2002). A nem spórás baktériumok közül az *Enterococcus faecalis* a legellenállóbb a környezeti behatásokkal szemben. Tizedelési ideje 60 °C-on 1-30 perc között lehet, míg  $z$  értéke a tizedelési időből meghatározva 15-20 °C között alakulhat (Deák, 2006). Amennyiben mennyisége élelmiszerben eléri a  $10^6$ /g nagyságrendet, akkor ételmérgezést is okozhat (Bíró, 1993; Devriese *et al.*, 1993; Hardie *et al.*, 1997; Morrison *et al.*, 1997).

### 2.3.2. *Clostridium* nemzetség jellemzése

A klostridiumok a *Firmicutes* törzs *Clostridiales* rendjébe és *Clostridiaceae* családjába tartoznak (de Vos *et al.*, 2009). A *Clostridium* (*C.*) néven leírt mintegy 200 faj között a heterogenitás rendkívül nagyfokú és osztályozásuk kevésbé megoldott. A még közel sem végleges vizsgálatok

---

---

szerint a *Clostridium*-ok közt nem kevesebb, mint 20 filogenetika vonal körvonalazható. A klosztridiumok obligát anaerob baktériumok, amelyek nem képesek az oxigént hasznosítani (Kawasaki *et al.*, 1998). Átmérőjük általában 7-8  $\mu\text{m}$ , peritrich csillós pálcika alakúak, endospóra termelésére képesek. Spóráik nagyon ellenállóak, deformálják a sejteket és elhelyezkedésük fajfüggő (url<sup>2</sup>). A klosztridium fajok mindenütt megtalálhatók a természetben. Általában a talajban, szennyvízben, tengeri üledékben, rothadó növényzetben, állati és növényi termékekben, emberi bélcsatornában, más gerincesekben és rovarokban, illetve lágy emberi és állati szövetek fertőzésekor fordulnak elő (Sneath, 1986). Számos klosztridium faj patogén. Ezek főként a proteolitikus fajok, amelyek az emberi és állati szervezetbe jutva toxinokat termelnek, és különféle megbetegedéseket okoznak: gázgangrénát (gáz-ödéma), tetanust (merevgörcs) és botulizmust. Az emberek esetében a klosztridiumok által okozott gázgangréna egyike a leghevesebb elhalással járó fertőzéseknek (Stevens és Bryant, 2002; Bryant *et al.*, 2006; Mohácsiné Farkas, 2007).

#### *Clostridium perfringens* jellemzése

A *Clostridium perfringens*-t 1892-ben írta le Welch, aki *Bacillus aerogenes capsulatus*-nak nevezte el, később a *Bacillus phlegmonis emphysematosae* vagy a Fränkel-bacillus nevet kapta (Alföldy *et al.*, 1963), majd *Clostridium welchii* néven volt közismert (url<sup>3</sup>).

A baktérium megtalálható különböző nyers és feldolgozott élelmiszerekben, főképp húsban és baromfiban (Rahman, 1978; Rohrs, 1994; Labbe, 2001; Juneja *et al.*, 2003). Tschirdewahn és munkatársai (1991) bélsár mintákból mutattak ki *Clostridium perfringens*-t. A vizsgált szarvasmarha bélsárminták 36%-a, a baromfi minták 80%-a, a sertés minták 2%-a

tartalmazta a baktériumot. Hall és Angelotti 1965-ben egy kísérletsorozatban feldolgozott- és nyers szarvasmarha-, borjú-, bárány-, sertés- és csirkehús minták 43,1%-ából izoláltak *C. perfringens*-t. Craven (2001) által vizsgált brojlercsirke feldolgozó üzem több felülete is szennyezett volt ezzel a mikrobával. A nyers baromfi hús 10-80%-ában fordul elő (Waldroup, 1996), míg a nyers szarvasmarha féltetek felületéről 45 CFU/cm<sup>2</sup> mennyiségben mutatták ki *C. perfringens*-t (Sheridan *et al.*, 1996). 2001-ben Turcsán és munkatársai erezett libamáj mintákból mutatták ki. Az 5 vizsgált nyers libamáj minta átlagban 1,09x10<sup>2</sup> CFU/g mennyiségben tartalmazta a *C. perfringens*-t. 2000-ben Olsen és munkatársai *C. perfringens* által okozott ételmérgezésről számoltak be. A *C. perfringens* okozta ételmérgezés a legtöbb esetben enyhe lefolyású és ezért nem is jelentik. Az USA-ban becslések szerint évente 248520 eset fordul elő (Mead *et al.*, 1999), amelynek becsült költsége esetenként 200 USA dollár (Todd, 1989).

A *Clostridium perfringens* (**4. ábra**) spórák képző baktérium, spórái általában centrálisan, ritkán excentrikusan helyezkednek el (Kovács, 1997; Rahman, 1978), ovális alakúak, a baktériumsejtet kidomborítják (deformáló spóra) (url<sup>3</sup>). A szaporodáshoz szükséges pH 5,5 és 8,0 közötti, míg a vízaktivitás (a<sub>w</sub>) érték 0,95 és 0,97 között változik. A növekedést serkenti fermentálható szénhidrát jelenléte, valamint nem gátolja 20% epe hozzáadása. A szaporodást 2%-ban jelenlévő NaCl nem, azonban már 6,5% NaCl jelenléte befolyásolta Watt (1973) és Reilly (1980) által végzett kísérletben. Biokémiai tulajdonságait tekintve elmondható, hogy a nitrátot nitritté redukálja, a fehérjét nem támadja meg, kataláz és lipáz negatív, valamint lecitináz pozitív (Kovács, 1997). Továbbá szulfitokat és vasat tartalmazó táptalajokban a szulfitok redukciója következtében fekete csapadékot képez (Weenk *et al.*, 1990).



**4. ábra** A *Clostridium perfringens* baktérium mikroszkópos képe (url<sup>4</sup>)

A *Clostridium perfringens* esetében a termelt enterotoxinok alapján A, B, C, D és E típusokat különítenek el (Sterne és Warrack, 1964; Bíró, 1993; Uzal, 2004). A főbb toxinokat a görög abc betűivel jelölik ( $\alpha$ ;  $\beta$ ;  $\epsilon$ ;  $\iota$ ), ezeken kívül még 8 kevésbé jelentős toxint is termelhetnek, amelyek nagyban hozzájárulnak az ételmérgezéses tünetek kialakulásához. A toxinok közül az A, D és E típusnál az optimális szaporodási hőmérséklet 45 °C, a B és a C típus viszont egyaránt jól növekszik 37 és 45 °C-on is (Beerens *et al.*, 1965).

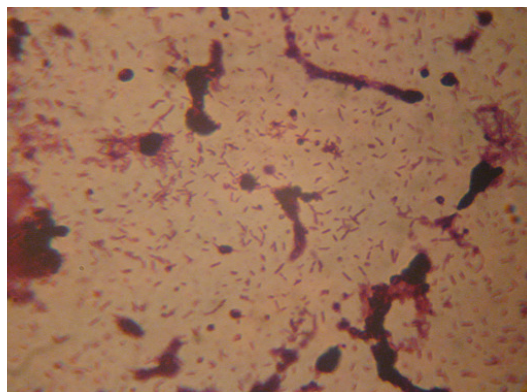
A *Clostridium perfringens* gázgangrénát okozó törzsei termelik a lecitináz-C-t, amit perfringens alfa-toxinnak, illetve foszfolipáznak is neveznek. Ez egy erős toxicitású enzim, átmenetet képez a valódi toxinok és az extracelluláris enzim jellegű virulenciafaktorok között. A foszfolipidek bomlását okozza a vörösvértestekben, s ennek következménye a hemolízis (Sveiczner, 1997). A *Clostridium perfringens* B és C típusok által termelt  $\beta$ -toxin viszont a humán szervezetbe kerülve lebontja a bélfal glikoprotein (mukózus) védőrétegét és kifelélyesedést, véres székletet okozhat. A véráramba is felszívódhat görcsös hasi tüneteket okozva. A toxinok az élelmiszerben keletkeznek, de előfordul, hogy a gyomor savas közegét túlélt

sejtek a vékonybélben sporulálódnak, kolonizálódnak és toxint termelnek. A toxint a sporulálás állapotában levő sejtek termelik (url<sup>5</sup>). A *C. perfringens* enterotoxint (CPE) is termel a sporuláció közben, amely leggyakrabban a vékonybélben fordul elő. Az ételmérgezéssel kapcsolatos CPE gén általában a kromoszómában helyezkedik el, míg a nem ételmérgező CPE gén rendszerint plazmidon kódolt (Collie és McClane, 1998). A *Clostridium perfringens* ételmérgezésben játszott szerepét a hetvenes évek végén ismerték fel (Wolf és Lechowich, 1989). Az ételmérgezés akkor fordulhat elő, ha a húst a hőkezelést követően nem megfelelően tárolják. Az oxigénszint ugyanis elegendő mértékben redukálódik a hőkezelés során ahhoz, hogy az obligát anaerob klosztridiumok elszaporodhassanak (Farkas *et al.*, 1978). Ételmérgezés létrejöttéhez  $10^6$ - $10^7$ /g mennyiségben jelen lévő, életképes vegetatív sejt szükséges (McNamara és Lattuade, 1998), azonban  $10^5$ /g csíraszám is elegendő a megbetegedés létrejöttéhez (Labbe és Juneja, 2002; Rodler, 2005). Ételmérgezés következtében fellépő hasmenés és a hasi fájdalom 8-14 órával a fertőzött étel elfogyasztását követően jelentkezik, és 2-24 óráig tart. Általában egy nap alatt áll helyre a szervezet (Hobbs *et al.*, 1953).

### *Clostridium sordellii* jellemzése

A *Clostridium sordellii*-t 1922-ben izolálta az argentin származású Alfredo Sordellii (Smith, 1975a; Smith, 1975b), aki morfológiája és a fertőzést követő szövettani vizsgálatok alapján a *Bacillus oedematis sporogenes* nevet adta neki, majd 1927-ben nevezték át *Bacillus sordellii*-nek (Hall és Scott, 1927). Két év elteltével kimutatták, hogy azonos a *Clostridium oedematoides* baktériummal, és a *Clostridium sordellii* nevet kapta (Hall *et*

*al.*, 1929). A morfológiai és a biokémiai vizsgálatok eredményeiben található hasonlóságok alapján a *Clostridium sordellii* a *Clostridium bifermentans* virulens változatát jelenti (Aldape *et al.*, 2006). A *Clostridium sordellii* (**5. ábra**) spórái ovális és centrikus elhelyezkedésűek lehetnek, a baktériumsejtfalat alig domborítják ki, gyakran a szabadban is megtalálhatók (Rode *et al.*, 1971; Popoff, 1987).



**5. ábra** A *Clostridium sordellii* baktérium fénymikroszkópos felvétele

**Forrás:** saját felvétel

*Clostridium sordellii*-t izoláltak talajból (Smith, 1975b), egészséges ember székletéből (Finegold *et al.*, 1983), normál műtéti sebekből (Sanderson *et al.*, 1979; Willis, 1969), pénisz sérüléseiből (Chapel *et al.*, 1978), vérből (Lynch *et al.*, 1980), tályogokból, hüvelyből, egészséges és beteg fácán vékonybélszakaszából (Mead *et al.*, 1973), kutyák csontszövetéből csontvelőgyulladásnál (Walker *et al.*, 1983), illetve csirkék hámszövetéről (Sneath, 1986). Magyarországon zsigerelt, valamint érezett libamájban  $10^1$ , illetve  $10^2$  CFU/g mennyiségben találtak *C. sordellii* baktériumot (Turcsán, 2005).

Az amerikai sajtóban 2005-ben megjelent Centers for disease control and prevention (CDC) közlése szerint, a közelmúltban regisztrált 10 orvosi

eset közül 8 fertőzés szülés, valamint orvosi abortusz után következett be, egy esetben pedig a fertőzés nem volt kapcsolatba hozható az egyik előbb említett okkal sem, azonban felmerült az élelmiszer eredetű megbetegedés lehetősége.

A *C. sordellii* a húsok bomlásában részt vesz, H<sub>2</sub>S gázt azonban nem termel. Eszkulin hidrolízisére nem képes, a fruktózt fermentálja (Sneath, 1986). Nem termel katalázt, vagy lipázt tojás sárgáját tartalmazó agaron, és nem fermentálja az amigdalint, a cellobiózt, a cellulózt, a glikogént, az inulint, a mannózt, a trehalózt és a xilózt (Rode *et al.*, 1971).

A *Clostridium sordellii* a szervezetbe jutva exotoxinjaival progresszív ödémát, nehezen gyógyítható sokkot idéz elő. Hemorrhágiás és letális toxinjainak fiziko-kémiai tulajdonságai hasonlóak a *Clostridium difficile* A és B toxinjaihoz, valamint ezek játszanak központi szerepet a betegségek kifejlődésében (Nakamura *et al.*, 1985; Mafart és Eguerinel, 1998; Qa'dan *et al.*, 2001). A hemorrhágia és a letális toxinok állatokba oltása helyi szövetelhalást, és az érrendszer vérátersztővé válását okozzák. A toxinképződés specifikus elnyomása olyan antibiotikum használatával lehetséges, pl.: clindamycin, ami gátolja a bakteriális fehérje képződését (Abdulla és Yee, 2000). Tápcsatornába bekerülve, onnan felszívódva a vérkeringésbe, majd a szívbe, májba, valamint a vesébe jutva ezen szervekben lobot okoz (Varnam és Evans, 1991). Ismeretesek még az alábbi betegségek: pneumonia, endocarditis, arthritis, peritonitis, myonecrosis (url<sup>6</sup>).

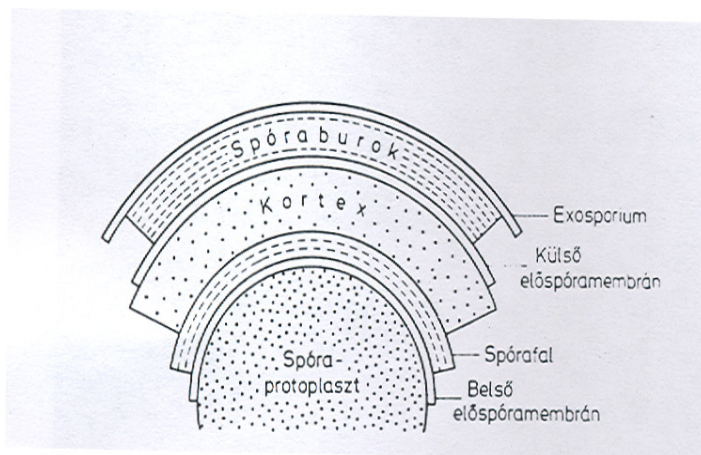
## **2.4. A spórázás folyamata**

### **2.4.1. Az endospóra jellemzése**

A klosztridiumok jellemző tulajdonsága, hogy nyugvó állapotú kitartó képletet, endospórát hoznak létre, ami nem folytat anyagcserét és ellenáll a



hőmérsékletnek, UV sugárzásnak, az oldószereknek és más kedvezőtlen hatásoknak. Az élelmiszerben nyugvó állapotában nem veszélyes, bár a spóra csírázása vezet a vegetatív sejtalakhoz, amely az élelmiszer eredetű megbetegedésekért felelős (Cano és Borucki, 1995; Ciarciaolini *et al.*, 2000; Atrih és Foster, 2002). A **6. ábrán** látható az endospóra szerkezete.



**6. ábra** Az endospóra szerkezete (Szabó, 1996)

A legkülső réteg a spóraburok, egy többrétegű szerkezet, amely magában foglalja a spórát. Több mint 25 összetevőből és gyakran erősen összekapcsolt polipeptidekből áll (Driks, 1999). Ez a burok elsősorban a kémiai és enzimikus hatásokkal szembeni védelemben játszik szerepet, mint féligáteresztő hártya (Russell, 1990; McDonnell és Russell, 1999; Riesenman és Nicholson, 2000). A burok alatt található a vastag peptidoglikán réteg, amely két rétegből áll, a vékony, belső kezdetleges sejtfalból és a külső kortexből. A kezdetleges sejtfalréteg a spóra teljes peptidoglikán mennyiségének csupán a 2-5%-át teszi ki (Atrih *et al.*, 1996; Atrih *et al.*, 1998). Ez megakadályozza a sejtek épségének elvesztését a csírázást követően, és mintát képez a peptidoglikán bioszintéziséhez a

vegetatív sejt kialakulása során (Atrih és Foster, 2001; Meador-Parton és Popham, 2000). A cortex a spóra térfogatának felét foglalja el. Kalcium-dipikolinátot és a murein rostos köteget tartalmazza. Lizozimmal támadható, és autólízise kulcsfontosságú a spóra csírázásánál (Szabó, 1996). A spóramag (citoplazma) tartalmazza a sejt számára nélkülözhetetlen metabolikus komponenseket úgy, mint a DNS-t. A spóra hőrezisztenciája nemcsak a szárazanyagának 5-15%-át kitevő kalcium-dipikolinát jelenlétére vezethető vissza, hanem dehidratált állapotára is (Gerhardt és Marquis, 1989; Marquis *et al.*, 1994). A nyugvó spóra belső membránja nyomást fejt ki egy több kristályos szerkezetre, ezáltal sokkal viszkózusabbá válik, mint a vegetatív sejt membránja, ami a csírázás során alakul vissza (Stewart *et al.*, 1980; Elmes *et al.*, 1983). A belső membrán változása hatással van a csírázási tulajdonságokra, megváltoztatja a membrán átjárhatóságát (Skomurski *et al.*, 1983).

### **2.5. Konzervek és félkonzervek tartósítása hőkezeléssel**

A hőkezelés, amely a termék hosszú eltarthatóságát teszi lehetővé, mikrobiológiai veszély elhárítására szolgál. A veszély elhárítása annál hatékonyabb, minél nagyobb mértékű a hőkezelés. Ennek bizonyos határon túli növelésekor az élelmiszer érzékszervi sajátosságait, mint például az állományát, ízét, illatát érheti súlyos károsodás (felületi elszíneződés kenőmájásoknál, lé eresztés, zselé kiválás stb.).

A hagyományos hőkezelési módokból két irányba mehetünk el. A magas hőmérséklet és rövid hőkezelési idő (HTST) változat azon a felismerésen alapul, hogy a baktériumok pusztulása és az érzékszervi tulajdonságok változásának sebessége között kb. háromszoros különbség áll fenn. A magas hőmérséklet és a rövid idő a baktériumokat hatásosabban pusztítja, mint a viszonylag alacsonyabb hőmérséklet és a hosszabb idő. A

---

rövid hőkezelési idő nem teszi lehetővé a hő okozta érzékszervi elváltozások túlzott mértékű előrehaladását. Ezt a hőkezelési módot folyadékok és áramlásra képes fluidumok hőkezelésénél tudjuk előnyösen alkalmazni.

Az alacsonyabb hőmérsékletű és hosszabb időtartamú (LTLT) hőkezelési módot a szilárd, hővezetéssel melegendő-hűlő termékeknel a felületi hőkárosodás csökkentése érdekében alkalmazzák. A kezelés hatására időegység alatt kevesebb hőmennyiséget juttatunk be a termékbe, ezáltal a felületről el nem szállított hőmennyiség lecsökken, és így a felületi túlmelegedésből eredő károsodás nem lesz olyan nagymértékű (Eisner, 1979).

A konzervek hőkezeltiségének mértékét az un. magban (hideg pont), általában a csomagolás geometriai középpontjában kell ellenőrizni, mivel ha ez a pont megfelelő hőterhelést kapott, az összes többi pont ennél csak többet kaphatott. A baktériumok elpusztítása biztos, ha a hidegpontra vonatkoztatva a megfelelő határértéket elérjük. Előfordul azonban, hogy a mag a középpontból eltolódik (Flambert és Deltour, 1972; Uno és Hayakawa, 1979; Körmendy és Körmendy, 2007). Ennek oka egyrészt a csomagolás hosszúsági és szélességi paramétereinek egymáshoz viszonyított aránya, másrészt az adott oldalnál eltérő hőátadási viszonyok, pl. a légtér megváltozása (Campbell és Ramaswamy, 1992).

### **2.5.1. A mikroorganizmusok hőpusztulása**

A mikroorganizmusok hőtűrése elsődlegesen genetikailag meghatározott faji tulajdonság, ami a környezeti körülmények szerint változhat. Nagy általánosságban a mikroorganizmusok hőtűrése összefüggésbe hozható a szaporodásuk hőmérsékleti jellemzőivel. A mikrobák hőérzékenysége függ a mikroba fajától, a sejt előéletétől,

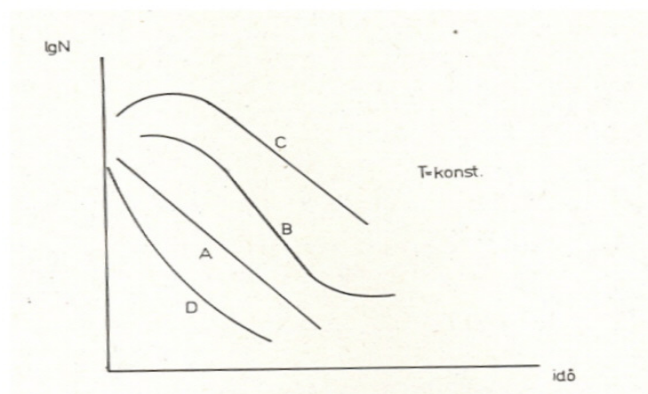
állapotától (vegetatív vagy spóra), korától (exponenciális, vagy stacionárius állapot), valamint a hordozó közeg tulajdonságaitól (pH, viszkozitás stb.) (Deák, 2006).

A mikroorganizmusok pusztulásának vizsgálatánál problémaként merül fel, hogy az elpusztult, halott sejteket biztonsággal nem lehet kimutatni. Egy adott mikrobasejt ugyanis akkor tekinthető halottnak, ha már nem képes a szaporodásra, ezért a mikroorganizmusok pusztulását a baktériumpusztító hatás után még életben maradt, szaporodásra képes, túlélő sejtek kimutatásával vizsgáljuk. A mikroorganizmusok nedves hőre bekövetkező pusztulása negatív exponenciális összefüggéssel írható le, ez elsőrendű reakciónak megfelelő kinetikai leírás, és elfogadhatóságának biológiai oka feltehetőleg az, hogy nedves hő hatására az életfontosságú (vitalis) fehérjék alvadnak meg monomolekuláris reakciónak megfelelően.

Egy adott mikroorganizmus és egy állandó hőmérséklet esetén a  $D$  érték jelöli a tizedre csökkenési időt. A  $D$  érték dimenziója idő (perc vagy óra). A tizedelési idő a mikrobapopuláció ellenálló képességének, rezisztenciájának mértéke is, tehát minél nagyobb a  $D$  érték, annál ellenállóbb a mikroba az adott cid hatással szemben. A tizedelési időt a mikroba fajtája, illetve az alkalmazott hőmérséklet nagysága erőteljesen befolyásolja. A  $D$  érték csak akkor egyértelmű, ha megadjuk a behatásnak azt a mértékét (dózisát), amelyre vonatkozik, pl.  $D_{65}$  a tizedelési idő  $65\text{ °C}$ -on (Novak *et al.*, 2003; Deák, 2006; Zhu *et al.*, 2008).

A túlélő sejtszám logaritmusát az idő függvényében ábrázolva a túlélési görbét (**7. ábra**) kapjuk, amely egyenesének meredekségéből számíthatjuk ki a tizedelési időt. A túlélési görbe ideális esetben teljes egészében, attól eltérő esetekben csak egy bizonyos szakaszban lineáris, vagyis az élősejtszám változása nem mindig exponenciális jellegű (Deák *et*

al., 1999). A túlélési görbék nem exponenciális alakja olyan módszertani hibák következménye lehet, mint pl. a spórák hőkezelés közben bekövetkezett aktiválódása, vagy a tenyészet kevert volta (Deák *et al.*, 1980).



A=exponenciális; B=szigmoid, reparálódás, C=aktiválás vagy deflokkuláció, D= rezisztens frakció

**7. ábra** A túlélési görbék leggyakoribb alakjai (Deák *et al.*, 1999)

A mikroorganizmusok hőpusztulási sebessége változik a hőmérséklettel, amelyet a  $z$ -érték jelez. A „ $z$ ” érték a tizedre csökkenési időnek (D) egy nagyságrenddel történő csökkenéséhez tartozó hőmérséklet növekmény (Deák, 2006). A  $z$ -értéket °C-okban fejezik ki. Ez az érték lehetővé teszi a különféle hőkezelési eljárások közötti összehasonlítást, továbbá ismeretében kiszámítható a hőmérsékleti együttható ( $Q_{10}$ ) is (Kovács, 1997). A  $z$  érték mellett valamely mikroba hőpusztulásának hőmérsékletfüggésére az ún. F-érték is használatos. Az F-fel jelölt hőkezelési egyenérték a legrégebben használt egyenérték, ugyanaz, mint az  $F_0$ , de megállapodás szerint  $z=10$  °C-nál. Az F-érték az az időtartam, amely a megfelelő mértékű mikrobapusztításhoz kell 121,1 °C hőmérsékleten. Az F-érték ismeretében valamely mikroorganizmusra vonatkozóan a szükséges  $t$  pusztítási idő

tetszőleges  $T$  hőmérsékleten kiszámítható. Ez egyben az adott mikroba ún. abszolút hőpusztulási görbéjének egyenlete is, amely különböző hőmérsékleteken megadja a mikroba meghatározott mértékű pusztításához szükséges kezelési időtartamokat. Az  $F$  és a  $z$  értékek ismeretében meghatározhatók a különböző  $T$  hőmérsékletekhez tartozó relatív pusztulási sebességek, vagyis az  $F/\tau$  értékek. A relatív pusztulási sebesség (RPS) azt fejezi ki, hogy az adott mikroba pusztulási sebessége hányszorosa vagy hányad része a referencia hőmérsékleten ( $T_{ref}$ ) mérhető sebességnek. A relatív pusztulási sebesség reciproka a relatív pusztulási idő (RPI), amely azt fejezi ki, hogy  $T$  hőmérsékleten a  $T_{ref}$  hőmérsékleten mért pusztulási arány eléréséhez az  $F$ -értékkel kifejezett időtartam hányszorosa (hányadrésze) szükséges ( $url^7$ ).

### 3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Vizsgálataimat a Nyugat-magyarországi Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kara Élelmiszertudományi Intézetének Deutsche Gesellschaft für Akkreditierung mbH által akkreditált mikrobiológiai laboratóriumában (DGA regisztrációs szám: DAP-PL-3042.00) végeztem.

#### 3.1. *Mikrobiológiai vizsgálati módszerek*

A vizsgálatokhoz felhasznált máj hazai termelőktől származó mulardkacsa mája volt. A kacsákat egyedi, ketreces tartásban nevelték, a kényszerhízalás 11 hetes korban kezdődött és 15 napig tartott. A tömőanyag 98%-a kukorica és 2%-a francia komplex adalékanyag volt. A májak mikrobiológiai állapotának vizsgálatakor a 4/1998 EüM rendeletben (**4. táblázat**) meghatározott mezofil aerob élősejt-szám, *Salmonella* spp., *Staphylococcus (S.) aureus*, valamint *Escherichia (E.) coli* mellett mezofil szulfitredukáló klosztridiumok, ezen belül *Clostridium perfringens* és *Clostridium sordellii*, valamint *Enterococcus faecalis* és *Enterococcus faecium* kimutatását is elvégeztem.

**4. táblázat** Az élelmiszer-előállítás belső minőségellenőrzését szolgáló mikrobiológiai vizsgálatok és ajánlott határértékek (4/1998 EüM rendelet)

Megnevezés	Vizsgálat	n	c	m	M
<b>Nyershús, hústermékek</b>					
Darabolt hús, belsőség, darált hús, baromfi (nyers, egész és darabolt)	<i>Salmonella</i> spp.	5	-	-	0/25g
	<i>S. aureus</i>	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	<i>E.coli</i>	5	2	50/g	5x10 <sup>2</sup>
	Mikrobaszám	5	3	10 <sup>6</sup>	10 <sup>7</sup>

n: elemi minta száma

c: az "m" értéket elérő vagy meghaladó elemi minták eltűrhető száma

"m": megfelelés határértéke

"M": visszautasítás határértéke

Vizsgálataim során a kacsamájból 10 g-ot mértem steril polietilén tasakba, amelyet 90 cm<sup>3</sup> steril hígító vízzel Stomacher homogenizáló készülékben (Seward Medical, London) homogenizáltam, majd a hígítást 10<sup>7</sup>-es hígítási tag eléréséig végeztem. A mikrobiológiai vizsgálatok során 20 db májmintát vizsgáltam, minden egyes májmintánál 3-3 párhuzamos vizsgálatot végeztem.

A **mezofil élő sejtszám meghatározását** ASU L 06.00-18 számú német szabvány (1996) alapján végeztem Plate Count (PC) táptalajjal (Merck KGaA, Darmstadt, Németország). Az agarlemezeket megszilárdulás után a telepkező egységek leszámolása előtt 30±1 °C-on 72±3 óráig inkubáltam WTB Binder KB-53 típusú termosztátban (Binder GmbH, Tuttlingen, Németország). Minden hígítás esetében 3 párhuzamos leoltást végeztem.

A ***Salmonella* jelenlét-hiány kimutatási vizsgálat** során az ASU L 00.00-20 számú német szabványt (2004) vettem alapul. Az eljárást több egymást követő lépésben hajtottam végre, mivel a *Salmonella* a mintában kis



---

számban, szubletálisan sérülten, vagy nagy számú egyéb enterobaktérium kíséretében fordul elő.

*Elődúsítás:* A mintát nem szelektív, folyékony tápközegben (pufferelt peptonvíz)  $37\pm 1$  °C-on tenyésztetem  $18\pm 2$  óráig, hogy a szubletálisan sérült baktériumok feléledjenek, és kimutatható számban legyenek jelen.

*Dúsítás:* Két folyékony, szelektív tápközeget, Rappaport Vassiliadis (RVS) és Muller-Kaufmann Tetrathionate-Novobiocin (MKTTn) levest (Merck KGaA, Darmstadt, Németország) oltottam be az inkubált elődúsító-közeg meghatározott mennyiségével. Az MKTTn levest  $37\pm 1$  °C-on,  $24\pm 3$  óráig, az RVS levest  $41,5\pm 1$  °C-on,  $24\pm 3$  óráig inkubáltam. A *Salmonella* a szelektív közegben túléli az inkubációt, illetve szaporodik, a kísérőflóra pedig gátolt a szaporodásban, vagy akár el is pusztul.

*Izolálás (kimutatás):* Az inkubációs idő letelte után dúsítónként egy-egy oltókacsnyi mintát ritkító szélesztéssel kentem ki brillantzöld-fenolvörös-laktóz-szacharóz (BPLS) (Merck KGaA, Darmstadt, Németország) és xilóz-lizin-dezoxikolát (XLD) agarlemezre (Merck KGaA, Darmstadt, Németország), majd ezeket 24-24 óráig  $37\pm 1$  °C-on inkubáltam. *Salmonella*-gyanús telepek (BPLS: halványpiros telepek piros udvarral; XLD: piros vagy narancsszínű áttetsző telepek fekete középponttal, piros közegháttérrel) esetén szerológiai és biokémiai módszerekkel azonosítást kell végezni. Az identifikálás megkezdése előtt öt gyanús telepet választunk ki és tápagar lemezre szélesztünk, majd a lemezeket  $37\pm 1$  °C-on 20-24 óráig inkubáltam. A lemezeken keletkező egyedi telepek képezhetik a további szerológiai és biokémiai vizsgálatok alapját. *Salmonella*-jelenlétet csak az O- és H-antigén egyértelmű detektálása, valamint a biokémiai jellemzők minden kétséget kizáró azonosítása után lehet megállapítani.

Az *Escherichia (E.) coli*-szám meghatározását az ASU L 06.00-36 német szabvány (1996) szerint végeztem. Az előszárított Mineral Modified Glutamate (MMG) agar (Merck KGaA, Darmstadt, Németország) felszínére légmentesen egy cellulóz-acetát membránszűrőt fektettem. Hígításonként 3-3 lemezt oltottam be 0,1-0,1 cm<sup>3</sup> inokulummal, amelyet a membránszűrőn szélesztettem el. A beoltott lemezeket 15 percig hagytam állni, majd megfordítva 37±1 °C-on 4 órán át inkubáltam. Az inkubációs idő leteltével a membránfiltrert Fluorocult *Escherichia Coli* (ECD) (Merck KGaA, Darmstadt, Németország) agarlemezre helyeztem, majd a lemezeket agarfelszínnel felfelé 16-18 órán keresztül 44±1 °C-os termosztátban aerob körülmények között inkubáltam. A kifejlődött telepeket megszámláltam, és a minta g-jára vonatkoztattam. Az X-glükuronid szubsztrát az *E. coli*-ra jellemző β-D-glükuronidáz enzim azonosítására használható. Az *E. coli* mind a Salmon-GAL, mind az X-glükuronidáz hasítására képes, így a pozitív telepek színe sötétkéktől ibolyaszínűig terjed. Az *E. coli* telepek megerősítésére néhány csepp Kovács-féle indol reagenst cseppenttem a sötétkék színű telepekre. Ha a reagens néhány másodperc alatt meggyipiros színűre változott, a pozitív indolreakció megerősítette az *E. coli* jelenlétét.

A **koaguláz-pozitív *Staphylococcus*-ok (S.) számának meghatározását** az ASU L 00.00-55 német szabványt (2004) követve hajtottam végre. A minta alaphígításából az ún. háromlemez módszerrel végeztem kioltást felületi szélesztéssel úgy, hogy minden hígítási tagból, 3-3 lemezen 0,1-0,1 cm<sup>3</sup>-t szélesztettem el szelektív Baird-Parker (BP) agaron (Merck KGaA, Darmstadt, Németország). A lemezeket 37±1 °C-on aerob körülmények között tenyésztettem, és 24±3 óra után, majd 48±3 óra elteltével ellenőriztem. A tipikus és atípusos telepeket koaguláz-teszttel erősítettem meg. A koaguláz-pozitív sztafilokokkuszok grammonkénti számát a

---

lemezeken leszámolt, és pozitívként megerősített telepek arányából határoztam meg.

Az *Enterococcus (Ec.) faecalis* és az *Enterococcus faecium* szám meghatározását az ASU L 06.00-32 német szabvány (1996) alapján végeztem. A vizsgálandó mintából elkészített decimális hígítási sor tagjaiból 0,1-0,1 cm<sup>3</sup>-t Citrate Azide Tween Carbonate (CATC) agarlemez (Merck KGaA, Darmstadt, Németország) felszínén egyenletesen eloszlattam. A lemezeket 48 órán át 37±1 °C-on, majd további 24 órán át szobahőmérsékleten inkubáltam. Közvetlenül az inkubálás után a tipikus – piros, sima, domború (*Enterococcus faecalis*) és rózsaszín, érdes, lapos (*Enterococcus faecium*) telepeket számoltam meg. A megerősítés kataláz próba segítségével történt. Minden hígítás esetében 3 párhuzamos leoltást végeztem.

A **mezofil szulfitredukáló *Clostridium***-ok meghatározását MPN módszer segítségével végeztem. Az MNP módszer alkalmazására azért volt szükség, hogy a vizsgált mintából 1,0x10<sup>0</sup> mikroba/g alatti sejtszámok is kimutathatók legyenek.

A vizsgálandó nyers kacsamájából alapsuszpenziót készítettem, majd ezt decimális alapon 10<sup>3</sup> tagig hígítottam. A hígításokból steril pipettával 1-1 cm<sup>3</sup>-t oltottam Reinforced Clostridial Medium (RCM) táplevesbe (Merck KGaA, Darmstadt, Németország), majd anaerob körülmények között 7 napon keresztül 37±1 °C-on inkubáltam azokat. A CFU/g sejtszám értéket a Hoskins-féle táblázat segítségével adtam meg. A mintákból három párhuzamos hígítást végeztem. Az azonosító vizsgálatok elvégzéséhez a pozitív csövekből egy-egy oltókacsnyi mintát ritkító szélesztéssel kentem ki véres agarra (Merck KGaA, Darmstadt, Németország), majd ezeket 24 óráig

37±1 °C-on inkubáltam. A lemezeken kifejlődött telepekkel azonosító vizsgálatokat végeztem, amelyek a következők voltak:

- Gram-festés
- Rapid<sup>TM</sup> ANA II System (Remel, Lenexa, USA) tesztsor.

Ez utóbbi az anaerob baktériumok biokémiai alapokon nyugvó kvalitatív meghatározására alkalmas rendszer (**5. táblázat**). A tesztpanel dehidratált reagenseket tartalmazó 10 reakcióhelyből és a tesztlyukak mögött található tálcasorból áll. A tálcasor segítségével egyszerre lehet inokulálni az egyes tesztlyukakat az előre meghatározott mennyiségű inokulummal. A 10 tesztlyuk 18 eredményt szolgáltat. A 3-10. teszthelyek két külön tesztet tartalmaznak egy lyukban. Először 4 órás inkubáció után kell értékelni a színváltozásokat, majd különböző reagensek adagolását követően újra fel kell jegyezni a lyukak színének változását. A pozitív és negatív színreakciók alapján egy kódszámot képeztem, ami az ERIC<sup>®</sup> program (Remel, Lenexa, USA) segítségével megadta, hogy a biokémiai tulajdonságok alapján hány százalékban hasonlít a vizsgált mikroorganizmus az egyes fajokhoz.

**5. táblázat Rapid<sup>TM</sup> ANA II rendszer kiértékelése**

Lyukszám	Teszt kód	Reagens	<i>C. perfringens</i>	<i>C. sordellii</i>
Rapid <sup>TM</sup> ANA II reagens hozzáadása előtt				
1	URE	Urea	-	+
2	BLTS	p-Nitrophenyl-β,D-disaccharide	-	-
3	αARA	p-Nitrophenyl-α,L-arabinoside	+	-
4	ONPG	p-Nitrophenyl-β,D-galactoside	+	-
5	αGLU	p-Nitrophenyl-α,D-glucoside	+	-
6	βGLU	p-Nitrophenyl-β,D-glucoside	-	-
7	αGAL	p-Nitrophenyl-α,D-galactoside	+	-
8	αFUC	p-Nitrophenyl-α,L-fucoside	-	-
9	NAG	p-Nitrophenyl-n-acetyl-α,D-glucosaminide	+	-
10	PO <sub>4</sub>	p-Nitrophenylphosphate	+	-
Rapid <sup>TM</sup> ANA II reagens hozzáadása után				
3	LGY	Leucyl-glycine-β-naphthylamide	-	-
4	GLY	Glycine-β-naphthylamide	-	-
5	PRO	Proline-β-naphthylamide	-	+
6	PAL	Phenylalanine-β-naphthylamide	+	-
7	ARG	Arginine-β-naphthylamide	+	-
8	SER	Serine-β-naphthylamide	+	-
9	PYR	Prroolidonyl-β-naphthylamide	+	-
10	IND	Tryptophane	-	+

**3.2. Telepszámlálásos módszerek eredményeinek értékelése**

A lemezeken kifejlődött telepek számának meghatározása során csak azokat a lemezeket vontam be az értékelésbe, amelyeken a tipikus telepek száma 10-300 közötti volt. A csíraszámot az értékelésbe bevont lemezeken megszámlált telepszámok súlyozott átlagaként adtam meg a hígítási fok figyelembe vételével az alábbi képlet alapján:

$$\bar{C} = \frac{\sum c}{(n_1 + 0,1n_2) \times V \times d}$$

ahol

$\bar{c}$  = a telepszám súlyozott középértéke,

$\Sigma c$  = a számításba bevont valamennyi lemez telepeinek összege (a legalacsonyabb és az azt követő kiértékelhető hígítási fokok),

$n_1$  = az első kiértékelhető hígítási fokhoz tartozó lemezek száma,

$n_2$  = a következő kiértékelhető hígítási fokhoz tartozó lemezek száma,

$d$  = az első kiértékelt hígítási szint hígítási foka,

$V$  = a lemezekre vitt inokulum mennyisége.

Háromlemez módszer esetében a telepeket mindhárom lemezen meg kell számlálni, és a kapott értékeket összeadva megkapjuk, hogy a szilárd minták esetében az alapszuspenzióban hány mikroba található.

### **3.3. Mikroorganizmusok hőűrésének vizsgálata**

#### **3.3.1. A kísérletbe bevont törzsek felélesztése**

A *Clostridium perfringens* törzseket a Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteményéből (NCAIM=National Collection of Agricultural and Industrial Microorganisms, Budapest, Magyarország) és a Nemzeti Gyűjteményből (NCTC=National Collection of Type Cultures, Anglia), a *Clostridium sordellii* törzset a Pasteur intézetből (Franciaország), az *Enterococcus faecalis* törzset pedig az Orvosi Baktériumok Magyar Nemzeti Gyűjteményéből (HNCMB=Hungarian National Collection of Medical Bacteria, Budapest, Magyarország) szereztem be.

A liofilezett, vákuumzáras, dupla ampullában lévő *C. perfringens* (NCAIM-B-01417 és NCTC 1265) és *C. sordellii* ATCC 9714 törzseket

---

Reinforced Clostridial Medium (RCM) táplevesben (Merck KGaA, Darmstadt) élesztettem fel és inkubáltam anaerob körülmények között  $37\pm 1$  °C -on 7 napig.

Az inkubálási idő lejártá után tömény szuszpenziót állítottam elő: az RCM táplevesben lévő tenyészetet  $30\text{ cm}^3$ -es steril centrifugacsövekbe adagoltam és temperált körülmények között ( $10\text{ °C}$ ) 4500 g-n, 15 percig Sigma 3K12 centrifugában (Sigma GmbH, Osterode, Németország) centrifugáltam. A centrifugálás után a felülúszót eltávolítottam, majd 1/4 -es erősségű tioszulfátos Ringer oldattal (Merck KGaA, Darmstadt, Németország) való többszöri átmosás után tiszta szuszpenziót állítottam elő.

A liofilezett *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 törzset  $10\text{ cm}^3$  agyszív táplevesben (Merck KGaA, Darmstadt, Németország) élesztettem fel. Az inkubálást  $37\pm 1$  °C-on 2 napig végeztem aerob körülmények között.

### 3.3.2. Spóráztatás

Többféle spóráztató levest próbáltam ki a két *C. perfringens* (NCAIM-B-01417 és NCTC 1265) és a *C. sordellii* ATCC 9714 törzs esetében.

A **6.-8. táblázatban** foglaltam össze a *Clostridium perfringens* esetében alkalmazott spóráztató táplevesek összetételét. A komponenseket a Sigma-Aldrich Kft.-től (Budapest, Magyarország) szereztem be.

**6. táblázat** Ellner (1956) által ajánlott tápleves összetétele *C. perfringens* spóráztatására

Összetevő	Mennyiség g/dm <sup>3</sup>
pepton	10
élesztőkivonat	3
keményítő	3
MgSO <sub>4</sub>	0,1
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	5
KH <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1,5
Na-thioglycolat	0,1

**7. táblázat** Kim és munkatársai (1967) által javasolt tápleves összetétele *C. perfringens* spóráztatására

Összetevő	Mennyiség g/dm <sup>3</sup>
pepton	15
tripton	30
keményítő	4
NaCl	5
MgSO <sub>4</sub>	0,2



**8. táblázat** Duncan és Strong (1968) által ajánlott spóráztató tápleves összetétele *C. perfringens* spóráztatására

Összetevő	Mennyiség g/dm <sup>3</sup>
pepton	15
élesztőkivonat	4
keményítő	4
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	10
Na-thioglycolat	1

A spóráztató táplevesek 100-100 cm<sup>3</sup>-ébe a centrifugálás után nyert törzsszuszpenzió 10-10 cm<sup>3</sup>-ét helyeztem, majd anaerob körülmények között 7 napig 37±1 °C-on inkubáltam. Az inkubálási idő lejárta után egy napra 4±3 °C-os hűtőszekrénybe helyeztem, majd a minta 80 °C-on 10 percig tartó hőkezelése után meghatároztam a spóraszámot Plate Count (PC) táptalaj (Merck KGaA, Darmstadt, Németország) segítségével.

Mivel a szakirodalomban nem találtam közléseket a *Clostridium sordellii* spóráztatásával kapcsolatban, ezért a *C. perfringens* esetében alkalmazott és a **6.-8. táblázatban** ismertetett tápleveseket, illetve Schaeffer és munkatársai (1963) által javasolt spóráztató táplevest (**9. táblázat**) alkalmaztam a *C. sordellii* ATCC 9714 spórázásának elősegítése érdekében.

A spóráztatás elvégzése után malachit-zölddel történő differenciáló spórafestéssel győződtem meg a spórázott alak jelenlétéről.

**9. táblázat** Schaeffer és munkatársai (1963) által javasolt tápleves összetétele*C. sordellii* ATCC 9714 spóráztatására

Összetevő	Mennyiség g/dm <sup>3</sup>
Nutrient leves	8
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,25
KCl	1

**3.3.3. Hőtűrési vizsgálatok**

A *Clostridium sordellii* ATCC 9714 és a *Clostridium perfringens* NCTC 1265 spóraszuszpenzió 10-10 cm<sup>3</sup>-ét steril kémcsőbe pipettáztam és 80 °C, 85 °C, 90 °C, 95 °C hőmérsékletű vízfürdőben (1003; Gesellschaft für Labortechnik mbH, Burgnedel, Németország) hőkezelttem. *Clostridium sordellii* ATCC 9714 esetében 80 °C és 85 °C –on 120 percig 30 percenként, míg 90 °C-on és 95 °C-on 12, illetve 6 percenként végeztem a leoltásokat. A *Clostridium perfringens* törzsszel 80 °C-on 120 percig, 85 °C-on 60 percig végeztem a hőkezelést 15 percenkénti leoltásokkal, 90 °C-on 14, míg 95 °C-on 8 percig tartottak a hőkezelési vizsgálatok 2 percenkénti leoltásokkal. A spóraszuszpenzióból a leoltási időpontokban kivett mintát jegesvízes fürdőbe helyeztem, majd lemezöntéssel módszerrel Plate Count (PC) táptalajon (Merck KGaA, Darmstadt, Németország) határoztam meg a spóraszámot anaerob körülmények között 37±1 °C-on, 3 napig inkubálva.

Az *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 esetében is elvégeztem a hőkezelési vizsgálatokat 60 °C, 62 °C, 65 °C és 70 °C-os vízfürdőben. Azért választottam alacsonyabb hőmérsékleteket, mivel a félkonzervek esetében nem cél az endospórák elpusztítása. 60 °C-on egy órán keresztül végeztem a

hőkezelést, kezdetben 10 percenkénti, majd a hőkezelés 30. percétől 5 percenkénti leoltásokkal. 62 °C-on a hőkezelési vizsgálatot 25 percen keresztül végeztem 5 percenkénti, míg 65 °C és 70 °C-on 5 percig történt a hőkezelés fél percenkénti leoltásokkal. A hőkezelt szuszpenzióból a leoltások időpontjában a mintát jegesvizes fürdőbe helyeztem, majd Citrate Azide Tween Carbonate (CATC) tápagar (Merck KGaA, Darmstadt, Németország) felszínén 0,1-0,1 cm<sup>3</sup>-t szélesztettem el, és 48 órán keresztül 37±1 °C-on inkubáltam.

Minden hőkezelési vizsgálatot 3-3 ismétlésben, 2-2 független párhuzamossal végeztem.

### **3.4. Kacsamáj félkonzerv termékfejlesztése**

A termékfejlesztés során közreműködtem kereskedelmi forgalomban már kapható kacsamáj félkonzerv gyártástechnológiájának kidolgozásában. A Magyarországon gyártott félkonzerveknél az a cél, hogy élvezeti értékben megközelítsék és versenyképesek legyenek a hasonló francia termékekkel szemben. A félkonzervek 200 és 400 g-os kiszerelésben készültek, amelyek mind a magánháztartások, mind pedig a vendéglátóipar igényeit maradéktalanul kielégítik. A 200 g-os félkonzervet 105 °C-on 35 percig tartó hőkezelésnek vetik alá. Ebben az esetben nem kell számolni az enterokokkuszok túlélésével, viszont az organoleptikus tulajdonságok romlanak, ezért a hőkezelés hőmérsékletét 100 °C alá kell csökkenteni. A 400 g-os terméknél 62 °C-on 120 percig tart a hőkezelés, ebben az esetben az *Enterococcus*-ok elpusztításához méretezik a hőkezelést. A kifejlesztett kacsamáj félkonzerv megfelel a Magyar Élelmiszerkönyv 1-3/13-1 számú előírás 13. pontjában meghatározott Kacsamájblokk előírásainak.

Az elkészített kacsamáj félkonzervet mesterségesen befertőztem *Clostridium sordellii* ATCC 9714 és *Clostridium perfringens* (NTCT 1265)

spóraszuszpenzióval, valamint *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 törzssuszpenzióval. A hőkezelési kísérletek során azt vizsgáltam, hogy milyen hosszú behatási idő szükséges a félkonzervben jelenlévő *C. perfringens* NCTC 1265 és *C. sordellii* ATCC 9714 spóráinak elpusztítására magasabb (80-95 °C), illetve az *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 esetében alacsonyabb, 60-65 °C-on történő két nagyságrendnyi sejtszám csökkentéséhez. A hőtűrési vizsgálataimat vízfürdőben (1003; Gesellschaft für Labortechnik mbH, Burgnedel, Németország), a modell tápközegben elvégzett hőtűrési vizsgálatokhoz hasonlóan azonos hőkezelési hőmérsékleteket és hőtartási időket alkalmazva (**3.3.3. fejezet**). A termék maghőmérsékletének folyamatos nyomonkövetésére zárt rendszerű, kétsatornás „Testo” hőmérsékletgyűjtő rendszert használtam, amelynek segítségével fél percenként ellenőriztem a maghőmérsékletet.

A hőkezelési vizsgálatokat 3-3 ismétlésben, 2-2 független párhuzamossal végeztem.

### **3.5. Hőkezelési paraméterek meghatározása**

A  $z$  (az a hőmérsékletemelkedés, amely a mikroba tizedre csökkenéséhez szükséges) értéket a hőpusztulási görbe iránytangensének negatív reciproka alapján határoztam meg:

$$\operatorname{tg}\alpha = -\frac{1}{z} \quad (1)$$

ahol

$\alpha$  = a pontokra (tizedelési idő logaritmusai) illesztett egyenes és az ordináta által bezárt szög

---

$z$  = a mikroba tizedre csökkenéséhez szükséges hőmérsékletemelkedés (°C)

A hőmérsékleti együtthatót ( $Q_{10}$ ) a hőpusztulási görbe meredeksége segítségével határoztam meg:

$$\operatorname{tg} \alpha = -\frac{\lg Q_{10}}{10} \quad (2)$$

$$\frac{1}{z} = \frac{\lg Q_{10}}{10} \quad (3)$$

$$Q_{10} = 10^{\frac{10}{z}} \quad (4)$$

A relatív pusztulási sebesség kiszámításánál a  $T$  hőmérsékleten szükséges pusztulási időt az  $F$ -érték törtrészeként fejeztem ki, azaz:

$$RPS = \frac{F}{t} = 10^{\frac{T-T_{ref}}{z}} \quad (5)$$

ahol

RPS= relatív pusztulási sebesség

$T$ = geometriai középpont hőmérséklete (°C)

$T_{ref}$ = referencia hőmérséklet (°C)

$z$  = a mikroba tizedre csökkenéséhez szükséges hőmérsékletemelkedés (°C).

A relatív pusztulási idő (RPI) a relatív pusztulási sebesség reciprokaként fejezhető ki:

$$RPI = \frac{1}{RPS} \quad (6)$$

RPI= relatív pusztulási idő (min)

RPS= relatív pusztulási sebesség

### **3.6. A kiértékelésben alkalmazott matematikai-statisztikai módszerek**

Az eredmények statisztikai értékelését az egy-, illetve kéttényezős varianciaanalízis segítségével végeztem, az általános lineáris modellt alkalmazva. A varianciák azonosságának (homogenitásának) vizsgálatát Levene-próbával ellenőriztem. Az átlagértékek közötti szignifikáns különbségeket (LSD<sub>95%</sub>) Duncan-féle post-hoc módszerrel (Duncan, 1975) határoztam meg, 5%-os elsőfajú hiba mellett, amelynek előnye a független változókra alkalmazható *t*-próbával szemben, hogy a vett minták számát is figyelembe veszi.

A kísérlet adatainak statisztikai feldolgozását és az eredmények ábrázolását Microsoft® Excel 2003 (Microsoft Magyarország Kft., Budapest, Magyarország), Microsoft® MicroCal Origin 3.0 (MicroCal Software, Inc., Northampton, MA, USA), illetve Statistica 8.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA) szoftverek segítségével végeztem el.

## 4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

### 4.1. *Kacsamáj mikrobiológiai vizsgálatának eredményei*

A kacsamájak mikrobiológiai minősítéséhez 20 mulardkacsa májat vizsgáltam. A 4/1988 EüM rendeletben meghatározott határértékeket összevettem az általam vizsgált nyers kacsamáj minták mikrobiológiai eredményeivel. Az eredményeket a **10. táblázat**ban mutatom be. A vizsgált nyers kacsamáj minták mikrobiológiai szempontból megfelelőek, de nem kifogástalan minőséggel rendelkeztek. Az összes élő sejszám egyik esetben sem haladta meg a 4/1998 EüM rendeletben előírt határértéket. Az *Escherichia coli* esetében 3 minta, a *Staphylococcus aureus* vonatkozásában 2 minta haladta meg az „m” értéket, de a „M” értéket nem érte el, így a májminőség valóban megfelelőnek mondható.

**10. táblázat** A vizsgált kacsamáj mikrobiológiai állapota

	Össz- csíraszám (CFU/g)*	<i>Salmonella</i> spp. (25 g-ban)	<i>C.</i> <i>perfringens</i> (mikroba/g)	<i>C.</i> <i>sordellii</i> (CFU/g)	<i>E. coli</i> (CFU/g)	<i>S. aureus</i> (CFU/g)
1.	$2,0 \times 10^5$	Negatív	$9,1 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$	$1,3 \times 10^2$	$6,9 \times 10^2$
2.	$1,3 \times 10^5$	Negatív	$3,6 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$	$1,8 \times 10^2$	$2,3 \times 10^2$
3.	$1,7 \times 10^5$	Negatív	$9,1 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$	$2,1 \times 10^2$	$5,6 \times 10^1$
4.	$2,5 \times 10^2$	Negatív	$<1,0 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$	$1,6 \times 10^1$	$1,0 \times 10^1$
5.	$5,4 \times 10^2$	Negatív	$3,6 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$	$2,2 \times 10^1$	$2,4 \times 10^1$
6.	$7,6 \times 10^1$	Negatív	$7,3 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$	$3,9 \times 10^1$	$2,2 \times 10^1$
7.	$8,2 \times 10^2$	Negatív	$<1,0 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$	$1,5 \times 10^1$	$2,2 \times 10^1$
8.	$5,4 \times 10^4$	Negatív	$<1,0 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$	$1,9 \times 10^1$	$1,6 \times 10^1$
9.	$3,6 \times 10^3$	Negatív	$3,6 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$	$3,4 \times 10^1$	$1,9 \times 10^1$
10.	$7,2 \times 10^5$	Negatív	$7,3 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$	$2,8 \times 10^1$	$2,2 \times 10^1$
11.	$6,1 \times 10^3$	Negatív	$9,1 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$	$4,3 \times 10^1$	$4,5 \times 10^1$
12.	$4,2 \times 10^4$	Negatív	$7,3 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$	$2,8 \times 10^1$	$6,9 \times 10^1$
13.	$3,9 \times 10^4$	Negatív	$7,3 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$	$4,0 \times 10^1$	$7,3 \times 10^1$
14.	$4,2 \times 10^4$	Negatív	$<1,0 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$	$1,5 \times 10^1$	$3,2 \times 10^1$
15.	$4,0 \times 10^3$	Negatív	$<1,0 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$	$1,3 \times 10^1$	$2,2 \times 10^2$
16.	$6,0 \times 10^4$	Negatív	$<1,0 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$	$2,2 \times 10^1$	$1,8 \times 10^1$
17.	$3,5 \times 10^4$	Negatív	$9,1 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$	$1,9 \times 10^1$	$6,1 \times 10^1$
18.	$3,6 \times 10^4$	Negatív	$3,6 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$	$4,1 \times 10^1$	$5,9 \times 10^1$
19.	$5,3 \times 10^5$	Negatív	$<1,0 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$	$3,6 \times 10^1$	$6,3 \times 10^1$
20.	$5,3 \times 10^3$	Negatív	$9,1 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$	$2,7 \times 10^1$	$3,7 \times 10^1$

\* telepkepző egységek száma grammonként

A rendeletben foglaltakon kívül meghatároztam még a mezofil szulfitredukáló *Clostridium*, ezen belül a *Clostridium perfringens* és a *Clostridium sordellii* mikroorganizmusok, valamint az *Enterococcus faecalis* és az *Enterococcus faecium* baktériumok számát.

A vizsgált 20 májmintából 13 esetben mutattam ki mezofil szulfitredukáló klosztridiumot. A pozitív mintákban *Clostridium sordellii*-t nem mutattam ki ( $<1,0 \times 10^0$  CFU/g), de *C. perfringens*-t mind a 13 mintából izoláltam és azonosítottam. A nyers kacsamáj minták egyike sem tartalmazott, *Enterococcus faecalis* és *Enterococcus faecium* baktériumot az általam alkalmazott kimutatási határérték felett ( $<1,0 \times 10^1$  CFU/g).



## 4.2. *Clostridium* spóráztatási kísérletek

### 4.2.1. *Clostridium perfringens* spóráztatásának eredménye

A kiválasztott táplevesekkel (3.3.2. fejezet) elért *C. perfringens* (NCAIM-B-01417 és NCTC 1265) spóraszám eredményeket a **11. táblázat** szemlélteti:

**11. táblázat** A vizsgált *Clostridium perfringens* törzsek spóraszama különböző spóráztató tápközegek esetében

Tápleves	Spóraszám (CFU/cm <sup>3</sup> )	
	<i>C. perfringens</i> NCAIM-B-01417	<i>C. perfringens</i> NCTC 1265
Ellner *	2,5x10 <sup>2</sup> <sup>a</sup>	4,2x10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>
Kim és munkatársai *	3,1x10 <sup>2</sup> <sup>b</sup>	2,8x10 <sup>4</sup> <sup>b</sup>
Duncan és Strong *	3,3x10 <sup>3</sup> <sup>c,d</sup>	4,1x10 <sup>5</sup> <sup>c,e</sup>

\*Plate Count táptalajon vizsgálva

<sup>a,b,c</sup> Az azonos oszlopban szereplő eltérő betűk szignifikáns különbséget jeleznek ( $P < 0,05$ )

<sup>d,e</sup> Az azonos sorban szereplő eltérő betűk szignifikáns különbséget jeleznek ( $P < 0,05$ )

A **11. táblázat** eredményei alapján megállapítható, hogy mindkét *C. perfringens* törzs (NCAIM-B-01417 és NCTC 1265) esetében a kapott spóramennyiségek között a Duncan és Strong (1968) által ajánlott spóráztató táplevessel értem el szignifikánsan ( $P < 0,05$ ) magasabb spóraszámot. A két *C. perfringens* törzs közül az NCTC 1265 törzssel nyertem szignifikánsan ( $P < 0,05$ ) jobb eredményt ( $4,1 \times 10^5$  CFU/cm<sup>3</sup>), ezért a hőkezelési kísérletek elvégzéséhez ezt a törzset használtam.

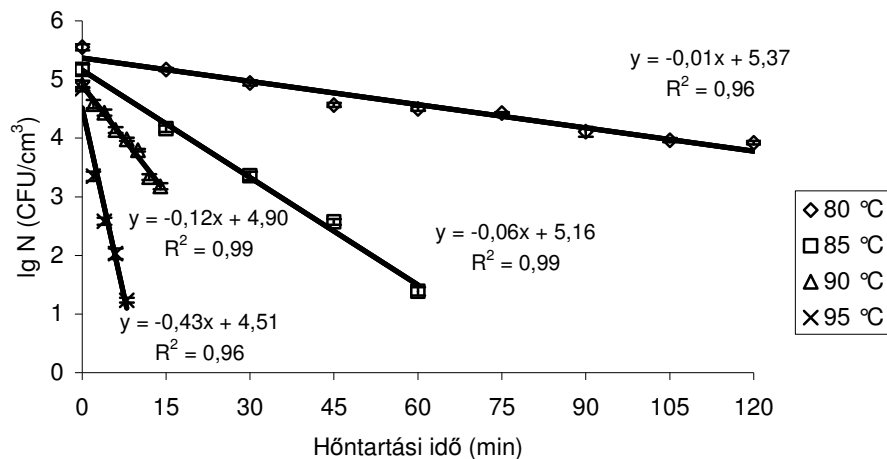
#### 4.2.2. *Clostridium sordellii* spóráztatásának eredménye

A *Clostridium sordellii* ATCC 9714 spóráztatására kiválasztott Ellner (1956), Kim és munkatársai (1967), valamint Duncan és Stong (1968) által javasolt spóráztató táplevesek nem bizonyultak megfelelőnek, mivel ezekben a táplevesekben a *Clostridium sordellii* ATCC 9714 nem spórázott. A Schaeffer és munkatársai (1963) által alkalmazott tápleves segítségével azonban  $4,1 \times 10^5$  CFU/cm<sup>3</sup> mennyiségben termelődött spóra, amely elegendőnek bizonyult a hőkezelési kísérletek elvégzéséhez.

#### 4.3. Hőtűrési vizsgálatok eredményei

##### 4.3.1. *Clostridium perfringens* NCTC 1265 hőtűrés vizsgálatának eredménye

A *Clostridium perfringens* NCTC 1265 hőkezelés hatására bekövetkező spóraszám változását a **8. ábra** és a **12. táblázat** szemlélteti.



**8. ábra** *Clostridium perfringens* NCTC 1265 túlélési görbéje 80 °C, 85 °C, 90 °C és 95 °C -on (az adatok 6 vizsgálat átlag±szórását jelölik)

**12. táblázat** *Clostridium perfringens* NCTC 1265 spóraszámának\* alakulása a hőkezelés hatására

Hőntartási idő (min)	Aktív spóra/cm <sup>3</sup>			
	80 °C	85 °C	90 °C	95 °C
0	5,6±0,05	5,2±0,08	4,9±0,06	4,8±0,03
2			4,6±0,07	3,4±0,08
4			4,4±0,05	2,6±0,06
6			4,1±0,05	2,0±0,09
8			4,0±0,03	1,2±0,04
10			3,8±0,02	
12			3,3±0,05	
14			3,2±0,05	
15	5,2±0,03	4,2±0,06		
30	4,9±0,04	3,4±0,07		
45	4,6±0,04	2,6±0,05		
60	4,5±0,04	1,4±0,07		
75	4,4±0,01			
90	4,1±0,08			
105	3,8±0,04			
120	3,9±0,03			

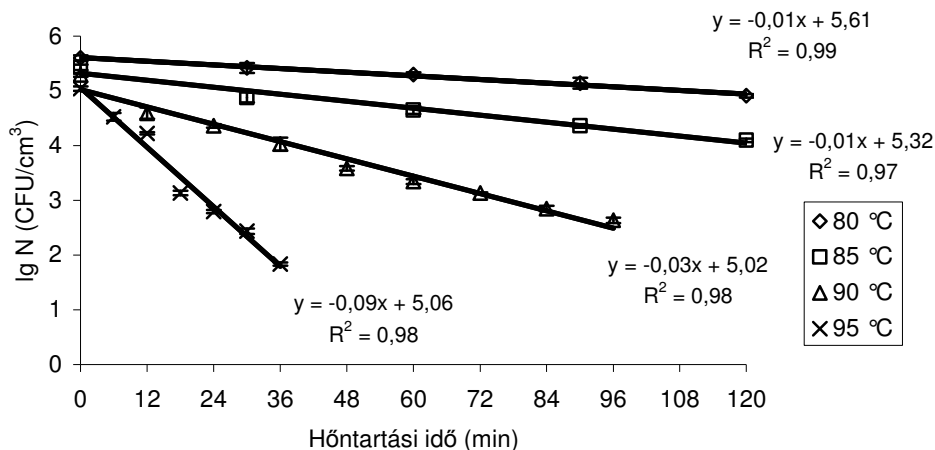
\* Az adatok 6 vizsgálat (3 ismétlés 2 párhuzamos) log CFU/cm<sup>3</sup>-átlag±szórását jelölik

80 °C-on a *Clostridium perfringens* NCTC 1265 spóraszám a 0. percnél 5,6 log CFU/cm<sup>3</sup> volt, amely a hőkezelés 30. perce után nem csökkent jelentős mértékben (4,9 log CFU/cm<sup>3</sup>). A 60. percnél egy nagyságrendnyi spóraszám csökkenést tapasztaltam a kiindulási spóraszámhoz képest (4,5 log CFU/cm<sup>3</sup>). A hőntartás 120. percére a spóraszám már nem következett be számottevő csökkenés (3,9 log CFU/cm<sup>3</sup>). A kiindulási spóramennyiség 85 °C-on 5,2 log CFU/cm<sup>3</sup> volt, amely a hőkezelés 15. perce után egy nagyságrenddel csökkent (4,2 log CFU/cm<sup>3</sup>). További 15 perces hőntartást követően ismételt egy nagyságrenddel csökkent a spóraszám (3,4 log CFU/cm<sup>3</sup>), míg végül a

hőkezelés 60. percére a spóraszám  $1,4 \log \text{CFU/cm}^3$  értéket ért el.  $90^\circ\text{C}$ -on végzett hőtűrési vizsgálatoknál a *C. perfringens* NCTC 1265 kiindulási spóraszámja  $4,9 \log \text{CFU/cm}^3$  volt, amely a hőkezelés 6. percére nem csökkent számottevően ( $4,1 \log \text{CFU/cm}^3$ ), majd a hőkezelés 14. percére a spóraszám több, mint másfél nagyságrenddel,  $3,2 \log \text{CFU/cm}^3$ -re csökkent. A *Clostridium perfringens* NCTC 1265 kiindulási spóraszámja  $95^\circ\text{C}$ -on  $4,8 \log \text{CFU/cm}^3$  volt. A hőkezelés 2. percében a spóraszám  $3,4 \log \text{CFU/cm}^3$ -re, majd a hőkezelés 8. percére a spóraszám  $1,2 \log \text{CFU/cm}^3$  mennyiséget ért el, tehát a hőkezelés végére 3 és fél nagyságrendnyi spórapusztulás következett be.

#### 4.3.2. *Clostridium sordellii* ATCC 9714 hőtűrési vizsgálatának eredménye

A *Clostridium sordellii* ATCC 9714 hőkezelés hatására bekövetkező spóraszám alakulását a **9. ábra** és a **13. táblázat** szemlélteti.



**9. ábra** *Clostridium sordellii* ATCC 9714 túlélési görbéje  $80^\circ\text{C}$ ,  $85^\circ\text{C}$ ,  $90^\circ\text{C}$  és  $95^\circ\text{C}$ -on (az adatok 6 vizsgálat átlag $\pm$ szórását jelölik)

**13. táblázat** *Clostridium sordellii* ATCC 9714 spóraszámának\* alakulása a hőkezelés hatására

Hőntartási idő (min)	Aktív spóra/cm <sup>3</sup>			
	80 °C	85 °C	90 °C	95 °C
0	5,6±0,05	5,4±0,05	5,3±0,03	5,1±0,04
6				4,5±0,07
12			4,6±0,10	4,2±0,02
18				3,1±0,04
24			4,4±0,03	2,8±0,03
30	5,4±0,09	4,9±0,09		2,4±0,05
36			4,0±0,12	1,8±0,03
48			3,6±0,04	
60	5,3±0,04	4,7±0,07	3,3±0,05	
72			3,1±0,02	
84			2,9±0,05	
90	5,1±0,10	4,4±0,03		
96			2,6±0,05	
120	4,9±0,03	4,1±0,03		

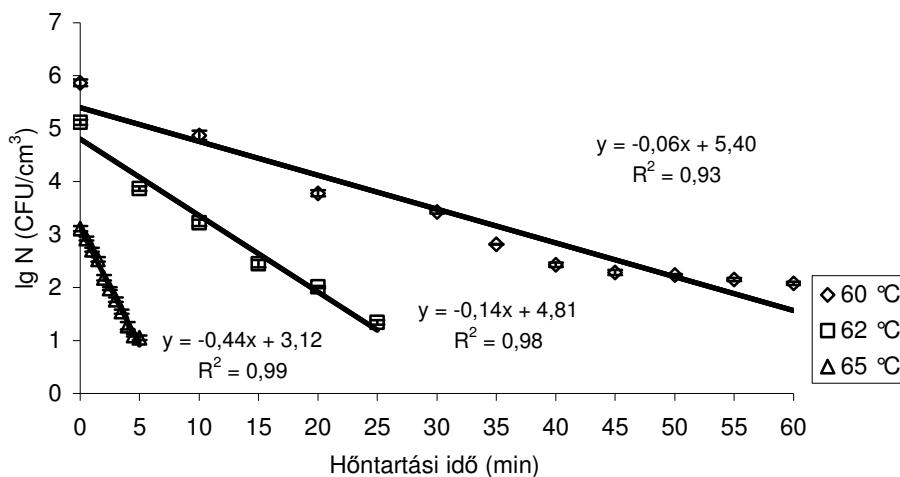
\* Az adatok 6 vizsgálat (3 ismétlés 2 párhuzamos) log CFU/cm<sup>3</sup>-átlag±szórását jelölik

80 °C-on, a hőkezelés kezdetekor a *Clostridium sordellii* ATCC 9714 spóraszám 5,6 log CFU/cm<sup>3</sup> volt. A hőkezelés 30. percénél lényeges csökkenés nem következett be (5,4 log CFU/cm<sup>3</sup>), valamint a 60. percben nem észleltem számottevő csökkenést (5,3 log CFU/cm<sup>3</sup>). A 90. percben (5,1 log CFU/cm<sup>3</sup>) és a 120. percben (4,9 log CFU/cm<sup>3</sup>) sem történt nagyságrendnyi csökkenés. *Clostridium sordellii* ATCC 9714 kezdeti spóraszám 85 °C-on 5,4 log CFU/cm<sup>3</sup>, ami a 30. percben kismértékben csökkent (4,9 log CFU/cm<sup>3</sup>). A hőkezelés 60. percében a spóraszám lényegében nem változott (4,7 log CFU/cm<sup>3</sup>), majd a 90., illetve a 120. percben sem történt nagyságrendnyi csökkenés (4,4 log CFU/cm<sup>3</sup> és 4,1 log CFU/cm<sup>3</sup>). *Clostridium sordellii* ATCC 9714 spórák ellenállósága miatt 90

°C-on is hosszabb hőtartási idővel végeztem el a vizsgálatokat. A kiindulási spóraszám  $5,3 \log \text{CFU/cm}^3$  volt, ami a hőkezelési idő 12. percére  $4,6 \log \text{CFU/cm}^3$ -re, míg a hőkezelési idő végére, azaz a 96. percbre az spóraszám  $2,6 \log \text{CFU/cm}^3$  értéket ért el. 95 °C-on a kezdeti  $5,1 \log \text{CFU/cm}^3$  spóramennyiségben a hőkezelés 12. percében egy nagyságrendnyi ( $4,2 \log \text{CFU/cm}^3$ ), míg a hőkezelés 36. percében további két nagyságrendnyi csökkenést ( $1,8 \log \text{CFU/cm}^3$ ) tapasztaltam.

#### 4.3.3. *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 hőtűrés vizsgálatának eredménye

Az *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 törzssel négy hőkezelési hőmérsékleten (60 °C, 62 °C, 65 °C és 70 °C) végeztem a hőkezelési vizsgálatokat. Az *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 elősejtszámának változása a 10. ábrán és a 14. táblázatban láthatóak:



10. ábra *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 túlélési görbéje 60 °C, 62 °C és 65 °C-on (az adatok 6 vizsgálat átlag±szórását jelölik)

**14. táblázat** *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 élősejt-számának\* alakulása a hőkezelés hatására

Hőntartási idő (min)	Aktív élősejt/cm <sup>3</sup>		
	60 °C	62 °C	65 °C
0	5,9±0,06	5,1±0,05	3,1±0,05
0,5			2,9±0,04
1			2,7±0,04
1,5			2,5±0,04
2			2,2±0,05
2,50			2,0±0,03
3			1,8±0,04
3,5			1,6±0,05
4			1,3±0,07
4,5			1,1±0,02
5		3,9±0,04	1,1±0,04
10	4,9±0,09	3,2±0,06	
15		2,5±0,07	
20	3,8±0,06	2,0±0,02	
25		1,3±0,04	
30	3,4±0,04		
35	2,8±0,01		
40	2,4±0,04		
45	2,3±0,05		
50	2,2±0,02		
55	2,2±0,03		
60	2,1±0,03		

\* Az adatok 6 vizsgálat (3 ismétlés 2 párhuzamos) log CFU/cm<sup>3</sup>-átlag±szórását jelölik

Az *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 törzs kiindulási sejtszáma 60 °C-on 5,9 log CFU/cm<sup>3</sup> volt, ami a hőkezelés 30. percére 2 nagyságrendnyi (3,4 log CFU/cm<sup>3</sup>), további 30 perces hőkezelés hatására egy nagyságrendnyi csökkenést tapasztaltam (3,4 log CFU/cm<sup>3</sup>). A 62 °C-os hőkezelési vizsgálat kezdetén az *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171

## Eredmények és értékelésük

sejtszáma  $5,1 \log \text{CFU/cm}^3$  volt, amely a 10. percre  $3,2 \log \text{CFU/cm}^3$ -t ért el. A hőtartási idő 25. percére a kiindulási sejtszám értékekhez képest közel 4 nagyságrendnyi ( $1,3 \log \text{CFU/cm}^3$ ) csökkenés következett be.  $65 \text{ }^\circ\text{C}$ -on a hőkezelési kísérletet 5 percig végeztem. A hőtartási idő 0. percénél az *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 sejtszáma  $3,1 \log \text{CFU/cm}^3$  volt. A hőkezelés 2. percére a sejtszám egy nagyságrenddel csökkent ( $2,2 \log \text{CFU/cm}^3$ ), majd az 5. percre további egy nagyságrendnyi sejtszám csökkenés volt tapasztalható ( $1,1 \log \text{CFU/cm}^3$ ). A  $70 \text{ }^\circ\text{C}$ -on végzett hőkezelési kísérlet során a 0. percénél, tehát amikor a törzsszuszpenzió hőmérséklete elérte a  $70 \text{ }^\circ\text{C}$ -t már nem tudtam élősejtszámot kimutatni ( $<1,0 \times 10^1 \text{ CFU/cm}^3$ ).

### 4.4. Hőkezelési paraméterek meghatározása

A tizedelési időket (D) a túlélési görbék egyenesének meredekségéből számítottam ki. Ez alapján a hőkezelési hőmérsékletekhez tartozó tizedelési csökkenési időket a **15.-17. táblázatban** foglaltam össze.

**15. táblázat** *Clostridium perfringens* NCTC 1265 tizedelési, lg D és lg t értékei

Hőkezelés hőmérséklete ( $^\circ\text{C}$ )	Tizedelési idő-D (min) *	lg D**	lg t***
$80 \text{ }^\circ\text{C}$	$61,4 < 75,2 < 97,1$	$1,87 \pm 0,01$	$2,95 \pm 0,01$
$85 \text{ }^\circ\text{C}$	$14,5 < 16,4 < 18,8$	$1,21 \pm 0,00$	$2,29 \pm 0,00$
$90 \text{ }^\circ\text{C}$	$7,4, < 8,2 < 9,3$	$0,91 \pm 0,01$	$1,99 \pm 0,01$
$95 \text{ }^\circ\text{C}$	$1,7 < 2,3 < 3,7$	$0,37 \pm 0,04$	$1,45 \pm 0,04$

\*95%-os konfidencia intervallummal

\*\*lg D tizedelési idő logaritmus

\*\*\*lg t = lg 12 + lg D (t=12D)



A tizedelési idő (D) a *C. perfringens* NCTC 1265 spórák esetében vizsgálataim szerint 75,2 perc ( $D_{80}$ ) és 2,3 perc ( $D_{95}$ ) között alakult. A szakirodalomban nem találtam közléseket a tizedelési időre vonatkozóan az általam vizsgált hőmérsékleteken, ezért magasabb hőkezelési hőmérsékletek adataival vettem össze. Bradshaw és munkatársai (1977) által publikált D érték 0,5 és 0,9 perc ( $D_{110}$ ) között alakult marhahúslevesben. Sarker és munkatársai (2000) 124 és 30 perc közötti  $D_{100}$  értékeket mértek levestenyészetben, míg Juneja és munkatársai (2003) 15,5 és 28,1 perc közötti  $D_{100}$  értékeket publikáltak marhahúslevesben. Heredia és munkatársai (1977) kétszer desztillált vízben a *C. perfringens* spórák tizedelési idejét 85 °C és 95 °C-on 55 és 24 perc között határozták meg.

A **15. táblázat** adataiból megállapítható, amíg 80 °C-on a *C. perfringens* NCTC 1265 spórák 2 nagyságrenddel történő csökkentéséhez 150,4 percre van szükség, addig 95 °C-on 4,6 perc elegendő a két nagyságrendnyi spórapusztulás eléréséhez.

A *Clostridium sordellii* ATCC 9714 tizedelési idejét a **16. táblázat** tartalmazza.

**16. táblázat** *Clostridium sordellii* ATCC 9714 tizedelési, lg D és lg t értékei

Hőkezelés hőmérséklete (°C)	Tizedelési idő-D (min) *	lg D**	lg t***
80 °C	153,9 < 181,8 < 222,2	2,26±0,01	3,34±0,01
85 °C	73,5 < 94,3 < 131,6	1,97±0,00	3,05±0,00
90 °C	32,9 < 37,9 < 44,6	1,58±0,01	2,66±0,01
95 °C	9,5 < 11,0 < 13,2	1,04±0,01	2,12±0,01

\*95%-os konfidencia intervallummal

\*\*lg D tizedelési idő logaritmus

\*\*\*lg t =lg 12 + lg D (t=12D)

A *C. sordellii* ATCC 9714 tizedre csökkenési ideje 181,8 ( $D_{80}$ ) és 11,0 ( $D_{95}$ ) perc között alakult, tehát 80 °C-on a spórák két nagyságrenddel történő csökkentéséhez 363,6 perc, 95 °C-on 22,0 perc szükséges. Az általam számított hőkezelési paramétereket a *Clostridium botulinum* E szerotípusával hasonlítom össze, mivel erre a szerotípusra állapítják meg a csírátlanítási paramétereket. Alderton és munkatársai (1974) desztillált víz vizsgálatokor 90,6 °C-on 5,0 perc, míg modell tápközegben  $D_{80}$  1,0-4,5 perc (Juneja *et al.*, 1995),  $D_{85}$  48,3 perc,  $D_{90}$  12,6 perc,  $D_{95}$  3,2 perc (Peck *et al.*, 1993) értékeket határoztak meg. Megállapítható, hogy az általam, a modell tápközegben meghatározott tizedelési idők hosszabbak, mint a *Clostridium botulinum* E szerotípusa esetében publikáltak, ez feltehetően a *Clostridium sordellii* e törzsének nagyobb hőtűrő képességével magyarázható.

**17. táblázat** *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 tizedelési, lg D és lg t értékei

Hőkezelés hőmérséklete (°C)	Tizedelési idő-D (min) *	lg D**	lg t***
60 °C	12,9 < 15,7 < 20,1	1,19±0,02	2,27±0,02
62 °C	5,7 < 6,9 < 8,9	0,84±0,01	1,92±0,01
65 °C	2,1 < 2,3 < 2,4	0,36±0,01	1,44±0,01

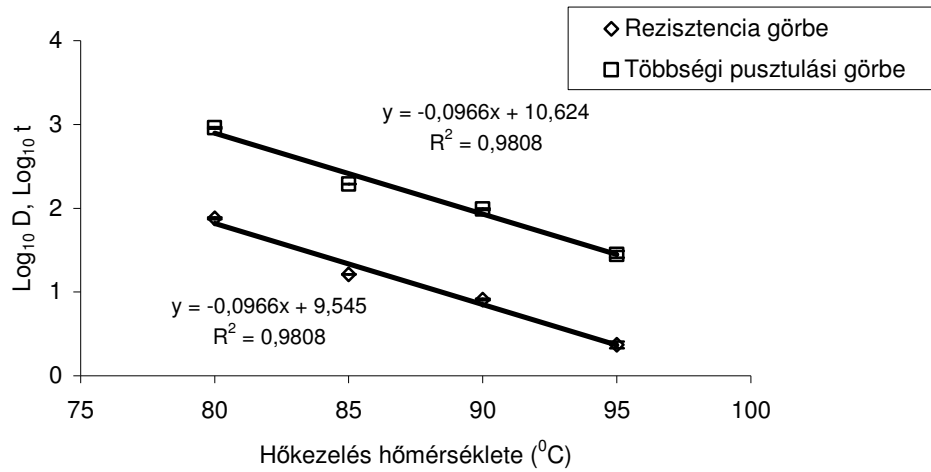
\*95%-os konfidencia intervallummal

\*\*lg D tizedelési idő logaritmus

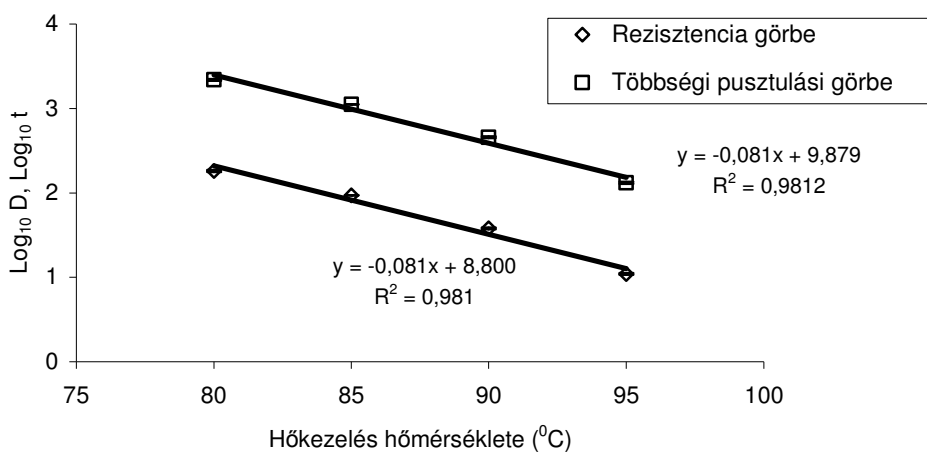
\*\*\*lg t =lg 12 + lg D (t=12D)

Az *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 hőkezelési hőmérsékletekhez tartozó tizedelési ideje 15,7 perc ( $D_{60}$ ) és 2,3 perc ( $D_{65}$ ) között alakult. Deák és munkatársai (1980) Ringer-oldatban  $D_{60}$  0,9-1,0 perc közötti tizedelési időről számoltak be az *Enterococcus faecalis* esetében.

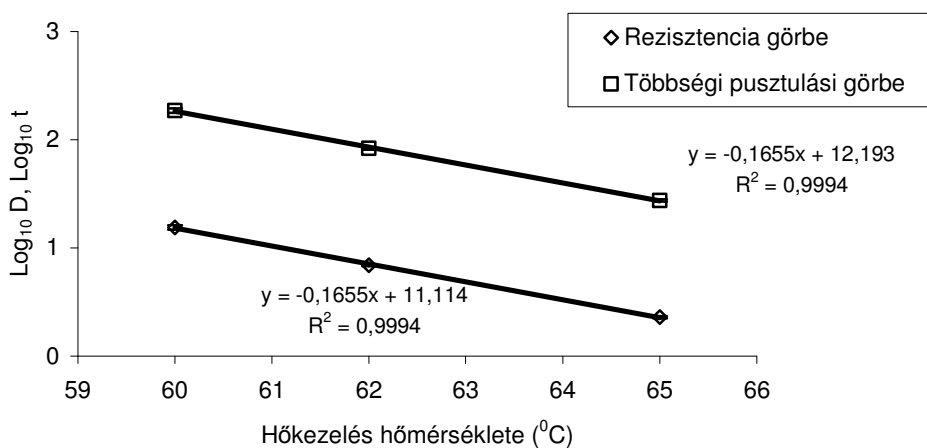
A vizsgált mikroorganizmusok (*C. perfringens* NCTC 1265, *C. sordellii* ATCC 9714 és az *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171) esetében kiszámított tizedelési idők logaritmusát a hőmérséklet függvényében ábrázolva a rezisztencia, vagy pusztulási görbét kaptam, amelyet a **11.-13. ábrán** tüntettem fel.



**11. ábra** *Clostridium perfringens* NCTC 1265 hőrezisztencia és többségi pusztulási görbéje



**12. ábra** *Clostridium sordellii* ATCC 9714 hőrezisztencia és többségi pusztulási görbéje



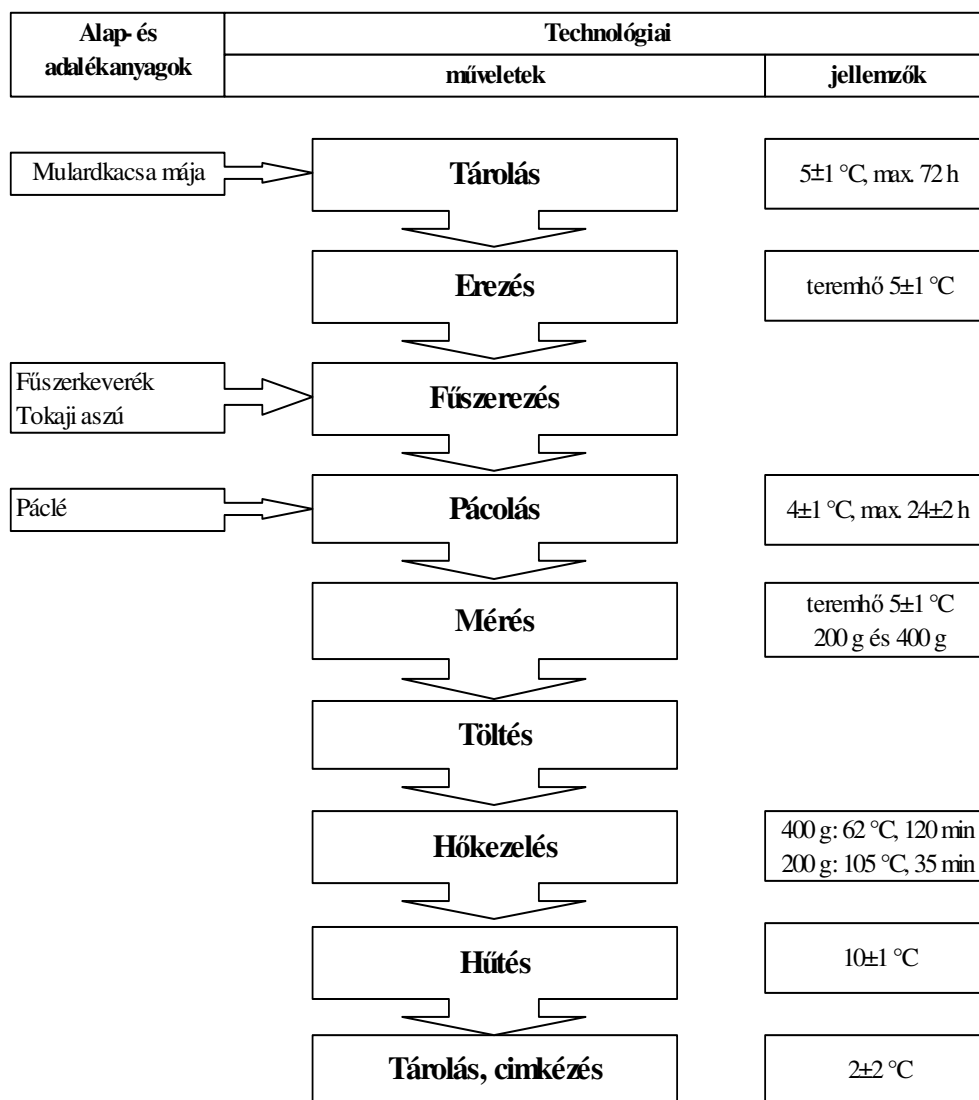
**13. ábra** *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 hőrezisztencia és többségi pusztulási görbéje

A **11. - 13. ábrán** látható többségi pusztulási görbékre illesztett egyenesek meredeksége alapján határoztam meg a „z” értékeket és a hőmérsékleti együtthatókat ( $Q_{10}$ ). A számított z érték *Clostridium sordellii* ATCC 9714 esetében 80 és 95 °C között 12,3 °C, amely nagyobb, mint Peck és munkatársai (1993) által a *Clostridium botulinum* E szerotípusa esetében számított z érték, amely 85 és 95 °C között 8,3 °C volt. A *C. sordellii* ATCC 9714  $Q_{10}$  értéke 6,5, azaz a hőmérséklet 10 °C-kal való emelése 6,5 szerezére növeli a törzs pusztulási sebességét. *Clostridium perfringens* NCTC 1265 esetében a z érték 10,4 °C, míg Asselt és Zwietering (2006) eredménye szerint 16,8 °C a *Clostridium perfringens* z értéke. A z értékből számított  $Q_{10}$  érték 9,2 volt.

Az *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 számított z értéke 6,0 °C, amely ahhoz szükséges, hogy a mikroorganizmus tizedre csökkentési idejét 1 nagyságrenddel csökkentse. Az elvégzett hőkezelési vizsgálatok alapján számított hőmérsékleti együttható ( $Q_{10}$ ) pedig 46,4.

#### **4.5. Kacsamáj félkonzerv kifejlesztése**

A hőkezelési kísérletek eredményeit beépítettem egy tokaji aszúval ízesített kacsamáj félkonzerv gyártási technológiájába, amelynek folyamatábrája a **14. ábrán** látható.



14. ábra Kacsamáj félkonzerv gyártásának folyamatábrája

A gyártási technológia első lépése a tárolás. Az előhűtöten érkező jegelt kacsamájat 5±1 °C-ra beállított hűtőben max. 72 óráig lehet tárolni. A nitrogén gázban lefagyasztott kacsamájat úgy kell felengedtetni, hogy a maghője 5±1 °C legyen, mert ha jobban felmelegszik, nagy lesz a

---

hőkezeléskori zsírkiválás. Az előhűtött felengedett kacsamájból kézzel maradéktalanul el kell távolítani az érhálózatot, esetleges epés, véraláfutásos részeket. A kimért fűszereket, adalékanyagokat és a tokaji aszút egyenletesen elosztatva kell a kacsamájra juttatni.

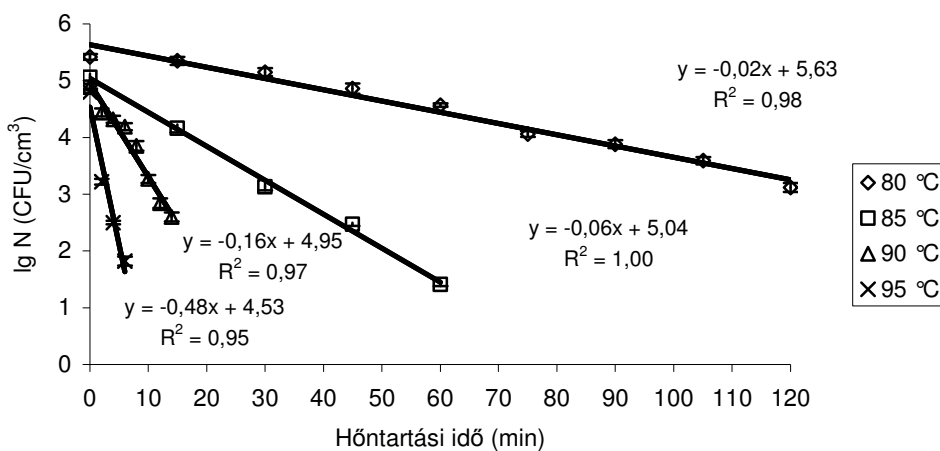
A pácolás során a befűszerezett kacsamájat fehér ládába polietilén fóliával letakarva,  $4\pm 1$  °C-ra beállított hűtőben  $24\pm 2$  óráig kell pácolni, majd ezt követi a mérés, amelynek során „terriner” műanyag formánként a pácolt kacsamájból a kívánt mennyiséget kell kimérni. A kacsamáj kimérését követően a „terriner” műanyag forma aljába zselatint kell adagolni. A forma záró felületét tisztán kell tartani. A pácolt és az egy formához kimért kacsamájat kézzel légmentesen a formába kell tömöríteni. Amikor már a forma alján és falánál is légmentes a töltés, a májat a forma tetejénél el kell simítani. A töltés során a forma belsejére kenődött májat a betöltött máj magasságáig tiszta, egyszer használatos papír törölkendővel el kell távolítani. A terriner forma zárását kamrás zárógépen kell elvégezni.

A következő technológiai lépés a hőkezelés, amelyet főzőszekrényben, folyamatos gőz bevezetése mellett kell végezni. Ez a lépés élelmiszer-biztonsági szempontból kritikus pontnak tekinthető. A 200 g-os terméket  $105$  °C-on 35 percig, míg a 400 g-os félkonzervet  $62$  °C-on 120 percig kell hőkezelni. A hőkezelést követően a termékeket át kell rakni a sokkoló hűtőbe ( $-10\pm 1$  °C beállított hőmérséklet), és le kell hűteni  $+5$  °C-ra. Ezt a hőmérsékletet egy óra alatt éri el a termék. A sokkoló hűtés azért szükséges, hogy a hőkezelés után esetlegesen életben maradt mikroorganizmusok ne tudjanak szaporodni. Ügyelni kell arra, nehogy a késztermék megfagyjon. A lehűlt terméket ki kell szedni a sokkoló hűtőből, és a továbbiakban  $2\pm 2$  °C hőmérsékleten kell tárolni.

**4.6. A kacsamáj félkonzervvel végzett hőkezelési kísérlet mikrobiológiai eredményei**

**4.6.1. Clostridium perfringens NCTC 1265 spóraszámának alakulása kacsamáj félkonzervben**

A *Clostridium perfringens* NCTC 1265 spórával mesterségesen befertőzött kacsamáj félkonzervvel végzett hőtűrési vizsgálatok eredményeit a **15. ábra** és a **18. táblázat** segítségével mutatom be.



**15. ábra** *Clostridium perfringens* NCTC 1265 túlélési görbéje kacsamáj félkonzervvel végzett hőkezelési kísérletek eredményei alapján (az adatok 6 vizsgálat átlag±szórását jelölik)



**18. táblázat** *Clostridium perfringens* NCTC 1265 spóraszámának\* alakulása a hőkezelés hatására

Hőntartási idő (min)	Aktív spóra/cm <sup>3</sup>			
	80 °C	85 °C	90 °C	95 °C
0	5,4±0,05	5,1±0,06	4,9±0,04	4,8±0,03
2			4,4±0,07	3,2±0,05
4			4,3±0,06	2,5±0,03
6			4,2±0,06	1,8±0,08
8			3,9±0,08	1,0±0,07
10			3,3±0,07	
12			2,8±0,08	
14			2,6±0,08	
15	5,3±0,07	4,2±0,07		
30	5,2±0,07	3,1±0,06		
45	4,9±0,09	2,5±0,03		
60	4,6±0,03	1,4±0,03		
75	4,1±0,05			
90	3,9±0,07			
105	3,6±0,06			
120	3,1±0,08			

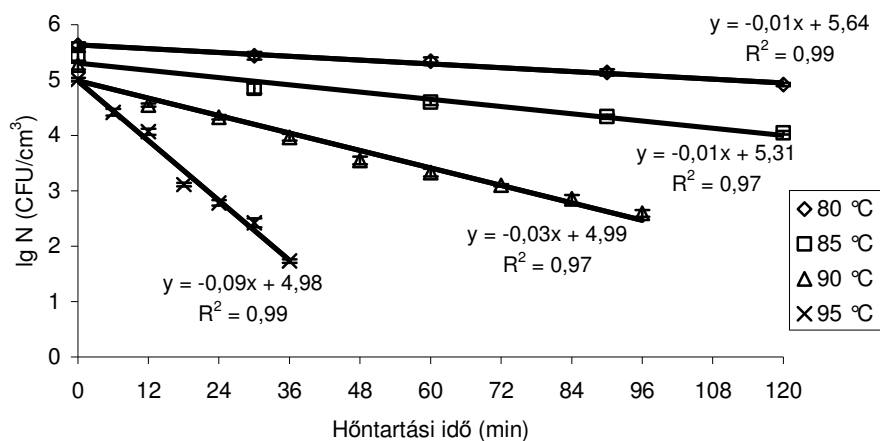
\* Az adatok 6 vizsgálat (3 ismétlés 2 párhuzamos) log CFU/cm<sup>3</sup>-átlag±szórását jelölik

A hőkezelési kísérletet 80 °C-on 120 percig végeztem. A kacsamáj félkonzervben a *Clostridium perfringens* NCTC 1265 kiindulási spóraszám 5,4 log CFU/cm<sup>3</sup> volt, amely a hőkezelés 30. percére 5,2 log CFU/cm<sup>3</sup>-re, majd a 120. percre 3,1 log CFU/cm<sup>3</sup>-re csökkent, tehát a hőkezelés hatására a kiindulási spóramennyiséghez képest 2 nagyságrendnyi spórapusztulás következett be. 85 °C-on a hőkezelési vizsgálatokat 60 percig végeztem 15 percenkénti leoltásokkal. A kiindulási spóraszám 5,1 log CFU/cm<sup>3</sup> volt, amely a hőkezelés 30. percére 2 nagyságrenddel (3,1 log CFU/cm<sup>3</sup>), a 60. percre további 2 nagyságrenddel csökkent (1,4 log CFU/cm<sup>3</sup>). *Clostridium perfringens* NCTC 1265 kezdeti spóraszám 90 °C-on 4,9 log CFU/cm<sup>3</sup> volt.

A hőkezelési vizsgálatot 14. percig végeztem, 2 percenkénti leoltásokkal. A spóraszám a hőkezelés 6. percére 4,2 log CFU/cm<sup>3</sup>-re, majd a 14. percre 2,6 log CFU/cm<sup>3</sup>-re csökkent. 95 °C-on a *Clostridium perfringens* NCTC 1265 törzs esetében a hőkezelési kísérletet 8 percig végeztem 2 percenkénti leoltásokkal. A kezdeti spóraszám 4,8 log CFU/cm<sup>3</sup> volt, amely a hőkezelés hatására 3 nagyságrenddel csökkent (1,0 log CFU/cm<sup>3</sup>) a hűntartási idő 8. percére (**15. ábra**).

#### 4.6.2. *Clostridium sordellii* ATCC 9714 spóraszámának alakulása kacsamáj félkonzervben

A *Clostridium sordellii* ATCC 9714 spóraszámának félkonzervben történő alakulását a **16. ábra** és a **19. táblázat** szemlélteti.



**16. ábra** *Clostridium sordellii* ATCC 9714 túlélési görbéje kacsamáj félkonzervvel végzett hőkezelési kísérletek eredményei alapján (az adatok 6 vizsgálat átlag±szórását jelölik)

**19. táblázat** *Clostridium sordellii* ATCC 9714 spóraszámának\* alakulása a hőkezelés hatására

Hőntartási idő (min)	Aktív spóra/cm <sup>3</sup>			
	80 °C	85 °C	90 °C	95 °C
0	5,6±0,05	5,4±0,08	5,3±0,08	5,0±0,03
6				4,4±0,06
12			4,6±0,03	4,1±0,06
18				3,1±0,00
24			4,3±0,04	2,8±0,05
30	5,4±0,07	4,9±0,09		2,4±0,08
36			4,0±0,06	1,7±0,03
48			3,6±0,07	
60	5,3±0,07	4,6±0,05	3,3±0,07	
72			3,1±0,02	
84			2,9±0,07	
90	5,1±0,06	4,3±0,04		
96			2,6±0,06	
120	4,9±0,03	4,1±0,03		

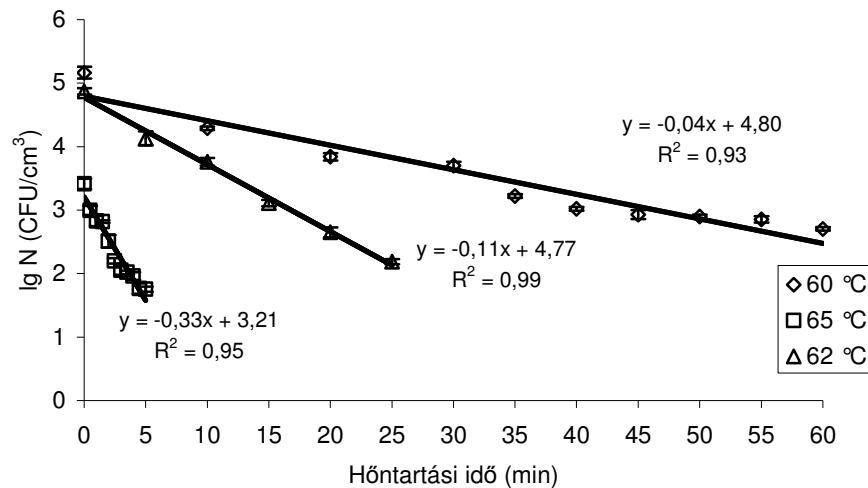
\* Az adatok 6 vizsgálat (3 ismétlés 2 párhuzamos) log CFU/cm<sup>3</sup>-átlag±szórását jelölik

A *Clostridium sordellii* ATCC 9714 kiindulási spóraszám 5,6 log CFU/cm<sup>3</sup> volt, amely 30 perces hőkezelést követően 5,4 log CFU/cm<sup>3</sup>-re, míg a 120. percre 4,9 log CFU/cm<sup>3</sup>-re csökkent. 85 °C -on a kacsamáj félkonzervet 120 percig hőkezelttem 30 percenkénti leoltásokkal. Az 5,4 log CFU/cm<sup>3</sup> kezdeti spóra mennyiségben a hőkezelés 30. percére nem történt számottevő csökkenés (4,9 log CFU/cm<sup>3</sup>), míg a hőkezelés 120. percére egy nagyságrenddel csökkent a spóraszám (4,1 log CFU/cm<sup>3</sup>) a kiindulási értékhez viszonyítva. A *Clostridium sordellii* ATCC 9714 kiindulási spóraszám 90 °C -on 5,3 log CFU/cm<sup>3</sup> volt, amely a hőkezelés 60. percére két nagyságrendet csökkent (3,3 log CFU/cm<sup>3</sup>), majd a 96. percre további 1 nagyságrendnyi spóraszám csökkenés (2,6 log CFU/cm<sup>3</sup>) következett be. A

*Clostridium sordellii*-vel ATCC 9714 befertőzött kacsamáj félkonzervet 95 °C-on 36. percig hőkezeltünk, 6 percenkénti leoltásokkal. A félkonzervben lévő kiindulási spóraszám 5,0 log CFU/cm<sup>3</sup> volt, a hőtartási idő 12. percére egy nagyságrendet (4,1 log CFU/cm<sup>3</sup>), majd a hőkezelés 36. percére 1,7 log CFU/cm<sup>3</sup>-re csökkent, amely közel 3 nagyságrendnyi spórapusztulást jelent a kezdeti spóramennyiséghez viszonyítva (**16. ábra**).

#### 4.6.3. *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 hőtűrésének vizsgálata kacsamáj félkonzervben

A mesterségesen, *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 mikroorganizmussal befertőzött félkonzervben a sejtszám alakulást a **17. ábra** és a **20. táblázat** szemlélteti.



**17. ábra** *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 túlélési görbéje kacsamáj félkonzervvel végzett hőkezelési kísérletek eredményei alapján (az adatok 6 vizsgálat átlag±szórását jelölik)

**20. táblázat** *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 sejtszámának\* alakulása a hőkezelés hatására

Hőntartási idő (min)	Aktív élősejt/cm <sup>3</sup>		
	60 °C	62 °C	65 °C
0	5,2±0,09	4,9±0,05	3,4±0,08
0,5			3,0±0,07
1			2,8±0,08
1,5			2,8±0,02
2			2,5±0,10
2,5			2,2±0,04
3			2,1±0,07
3,5			2,0±0,03
4			2,0±0,06
4,5			1,8±0,08
5		4,1±0,11	1,8±0,04
10	4,3±0,03	3,8±0,06	
15		3,1±0,05	
20	3,8±0,06	2,7±0,08	
25		2,2±0,04	
30	3,7±0,06		
35	3,2±0,01		
40	3,0±0,01		
45	2,9±0,07		
50	2,9±0,03		
55	2,9±0,05		
60	2,7±0,03		

\* Az adatok 6 vizsgálat (3 ismétlés 2 párhuzamos) log CFU/cm<sup>3</sup>-átlag±szórását jelölik

A hőtűrési vizsgálatokat a kacsamáj félkonzerv esetében a modell tápközeggel végzett vizsgálatok eredményei alapján 60 °C, 62 °C és 65 °C-on végeztem. 60 °C-os hőkezelés esetében a kacsamáj félkonzervben az *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 kiindulási sejtszáma 5,2 log CFU/cm<sup>3</sup> volt. A hőkezelési kísérlet 30. percére a sejtszám 3,7 log CFU/cm<sup>3</sup>-re, a 60.

## Eredmények és értékelésük

percre pedig  $2,7 \log \text{CFU/cm}^3$ -re csökkent, tehát a sejtszámcsökkenés közel 3 nagyságrendnyi volt.  $62^\circ\text{C}$ -on 25 percig végeztem a hőtűrési vizsgálatokat, 5 percenkénti leoltásokkal. A kezdeti *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 sejtszám  $4,9 \log \text{CFU/cm}^3$  volt, ami a hőkezelés első 10 perce után egy nagyságrenddel ( $3,8 \log \text{CFU/cm}^3$ ), míg a 25. percre további egy nagyságrenddel csökkent ( $2,2 \log \text{CFU/cm}^3$ ). A  $65^\circ\text{C}$ -on végzett hőkezelés során a kiindulási  $3,4 \log \text{CFU/cm}^3$  *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 sejtszám a hőkezelés első percében  $2,8 \log \text{CFU/cm}^3$ -re, a 3. percre  $2,1 \log \text{CFU/cm}^3$ -re, míg 5 perces hőkezelés után  $1,8 \log \text{CFU/cm}^3$ -re csökkent (17. ábra).

### 4.6.4. Kacsamáj félkonzerv hőkezelési paramétereinek meghatározása

A kacsamáj félkonzervvel végzett hőkezelési vizsgálatok esetében a túlélési görbék lineáris szakaszaiból meghatározott tizedelési időket (D) a 21.-23. táblázatban mutatom be.

#### 21. táblázat Kacsamáj félkonzervben hőkezelt *Clostridium perfringens*

NCTC 1265 számított tizedelési, lg D és lg t értékei

Hőkezelés hőmérséklete ( $^\circ\text{C}$ )	Tizedelési idő-D (min) *	lg D**	lg t***
$80^\circ\text{C}$	$43,9 < 50,5 < 59,5$	$1,70 \pm 0,01$	$2,78 \pm 0,01$
$85^\circ\text{C}$	$15,0 < 16,9 < 18,9$	$1,22 \pm 0,01$	$2,30 \pm 0,01$
$90^\circ\text{C}$	$5,2 < 6,1 < 7,5$	$0,78 \pm 0,00$	$1,86 \pm 0,00$
$95^\circ\text{C}$	$1,7 < 2,2 < 3,4$	$0,35 \pm 0,02$	$1,43 \pm 0,02$

\*95%-os konfidencia intervallummal

\*\*lg D tizedelési idő logaritmus

\*\*\*lg t = lg 12 + lg D (t=12D)

Vizsgálataim szerint a *C. perfringens* NCTC 1265 spórák tizedelési ideje 50,5 perc ( $D_{80}$ ) és 2,2 perc ( $D_{95}$ ) között alakult kacsamáj félkonzervben (**21. táblázat**). Az általam meghatározott 6,1 ( $D_{90}$ ) tizedelési időnél Byrne és munkatársai (2006) nagyobb D értékeket határoztak meg sertés löncs húsban: 30,6 perc ( $D_{90}$ ) és 1,9 perc ( $D_{100}$ ). Ez feltehetően azzal magyarázható, hogy a vizsgálatokhoz használt alapanyag lényegesen különbözött. Saját vizsgálataim során 100 g mennyiségű kacsamáj félkonzervben, míg az említett szerzők lönchúsban mérték be a hőinaktivációt feltehetően nagyobb tömegű mintában. A *Clostridium perfringens* NCTC 1265 számított  $z$  értéke 11,1 °C, tehát ahhoz, hogy a tizedelési idő egy nagyságrenddel csökkenjen 11,1 °C hőmérséklet-emelkedésre van szükség. Byrne és munkatársai (2006) ennél kisebb 8,3 °C-os  $z$  értékről számoltak be.

A **22. táblázat** adatai alapján a *Clostridium sordellii* ATCC 9714 számított tizedelési (D) ideje 175,4 perc  $D_{(80)}$  és 11,1 perc  $D_{(95)}$  között alakult, számított  $z$  értéke pedig 12,6 °C.

**22. táblázat** Kacsamáj félkonzervben hőkezelt *Clostridium sordellii* ATCC 9714 számított tizedelési, lg D és lg t értékei

Hőkezelés hőmérséklete (°C)	Tizedelési idő-D (min) *	lg D**	lg t***
80 °C	149,3 < 175,4 < 212,8	2,24±0,01	3,32±0,01
85 °C	67,1 < 91,7 < 144,9	1,96±0,01	3,04±0,01
90 °C	33,0 < 38,0 < 44,8	1,58±0,02	2,66±0,02
95 °C	9,8 < 11,1 < 12,8	1,05±0,00	2,13±0,00

\*95%-os konfidencia intervallummal

\*\*lg D tizedelési idő logaritmus

\*\*\*lg t =lg 12 + lg D (t=12D)

Mivel a szakirodalomban nem találtam közléseket a *Clostridium sordellii* tizedelési idejével és  $z$  értékével kapcsolatban, ezért a *Clostridium botulinum* E szerotípusával hasonlítottam össze az általam meghatározott értékeket. Lindström és munkatársai (2003) szivárványos pisztráng esetében  $D_{85}$  2 perc, osztrigában  $D_{80}$  0,8 perc (Bucknavage *et al.*, 1990), míg Gaze és Brown (1990) tőkehalban  $D_{80}$  18,3 perc és  $D_{90}$  1,1 perc közötti értékeket határoztak meg. Bucknavage és munkatársai (1990) által meghatározott  $z$  érték 8,6 °C, míg Gaze és Brown (1990) számított  $z$  értéke szintén 8,6 °C volt. Megállapítható, hogy az általam vizsgált kacsamáj félkonzervben a *Clostridium sordellii* ATCC 9714 tizedelési ideje hosszabb volt, mint a *Clostridium botulinum* E szerotípusának azonos hőkezelési hőmérsékleten mért tizedelési ideje.

A **23. táblázatban** az *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 tizedelési idejei láthatók.

**23. táblázat** Kacsamáj félkonzervben hőkezelt *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 számított tizedelési, lg D és lg t értékei

Hőkezelés hőmérséklete (°C)	Tizedelési idő-D (min) *	lg D**	lg t***
60 °C	21,0 < 25,9 < 33,8	1,41±0,02	2,49±0,02
62 °C	8,5 < 9,5 < 10,7	0,98±0,01	2,06±0,01
65 °C	2,6 < 3,1 < 3,8	0,49±0,01	1,57±0,01

\*95%-os konfidencia intervallummal

\*\*lg D tizedelési idő logaritmus

\*\*\*lg t =lg 12 + lg D (t=12D)

A 60 °C-on végzett hőkezelés során kapott túlélési görbéről leolvasott tizedelési idő 25,9 perc, tehát a 2 nagyságrendnyi sejtszámcsökkenéshez 51,8



percre, 65 °C-on 6,2 percre van szükség. Az *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 számított  $z$  értéke 5,5 °C.

Deák és munkatársai (1980) sovány tejben az *Enterococcus faecalis* tizedelési idejét  $D_{60}$  3,3-10 közötti percben határozták meg.

#### 4.6.5. Relatív pusztulási sebesség és relatív pusztulási idő meghatározása a vizsgált törzsek esetében

Meghatároztam a *Clostridium perfringens* NCTC 1265 és a *Clostridium sordellii* ATCC 9714 relatív pusztulási sebességét (RPS) és relatív pusztulási idejét (RPI) 100 °C-on, mint referencia hőmérsékleten ( $T_{ref}$ ). Az RPS-t és az RPI-t a 3.5. fejezetben feltüntetett (5) és (6) képlet segítségével számítottam ki.

**24. táblázat** *Clostridium perfringens* NCTC 1265 relatív pusztulási sebessége és ideje

Hőkezelés hőmérséklete (°C)	Relatív pusztulási sebesség (RPS)	Relatív pusztulási idő (min) (RPI)
80 °C	0,014	71,5
85 °C	0,041	24,5
90 °C	0,119	8,5
95 °C	0,344	3,0

A 24. táblázat adataiból látható, hogy a *C. perfringens* NCTC 1265 relatív pusztulási sebessége 80 °C-on 0,014, míg az RPI=71,5, ami azt jelenti, hogy 80 °C-on a mikrobapusztítás sebessége 0,014-ed része a 100 °C-on mérhetőnek, így ahhoz, hogy azonos mértékű pusztítást érjünk el, mint 100 °C-on, 71,5 percet kell hőntartani.

**25. táblázat** *Clostridium sordellii* ATCC 9714 relatív pusztulási sebessége és ideje

Hőkezelés hőmérséklete (°C)	Relatív pusztulási sebesség (RPS)	Relatív pusztulási idő (RPI)
80 °C	0,027	37,0
85 °C	0,066	15,0
90 °C	0,163	6,0
95 °C	0,404	2,5

A *C. sordellii* ATCC 9714 relatív pusztulási sebessége (**25. táblázat**) 80 °C-on 0,027, az RPI 37,0 perc. Ahhoz, hogy azonos mértékű pusztítást érjünk el, mint 100 °C-on, 37,0 percet kell hőntartani. Ez az érték 95 °C-on 2,5 perc.

#### 4.6.6. Hőtűrési vizsgálatok összehasonlítása

A hőkezelési vizsgálatok elvégzése után összehasonlítottam a modell tápközeg és a kacsamáj félkonzerv hőkezelése során kapott eredményeket, amelyeket a **26.-28. táblázat**ban foglaltam össze.

**26. táblázat** *Clostridium perfringens* NCTC 1265 spórák túlélésének alakulása modell tápközegben, illetve a kacsamáj félkonzervben

Hőntartási idő (min)	<i>Clostridium perfringens</i> NCTC 1265 endospórák túlélési százaléka*							
	Modell tápközeg				Kacsamáj félkonzerv			
	80 °C	85 °C	90 °C	95 °C	80 °C	85 °C	90 °C	95 °C
0	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
2			45,71 <sup>a</sup>	3,24 <sup>a</sup>			34,67 <sup>b</sup>	2,63 <sup>b</sup>
4			33,09 <sup>a</sup>	0,55			26,30 <sup>b</sup>	0,50
6			16,60	0,15			19,50	0,10
8			11,48	0,03			8,91	0,02
10			7,59 <sup>a</sup>				2,34 <sup>b</sup>	
12			2,63				0,87	
14			1,82				0,50	
15	41,69 <sup>a</sup>	9,77 <sup>a</sup>			85,11 <sup>b</sup>	12,59 <sup>b</sup>		
30	24,55 <sup>a</sup>	1,55			53,70 <sup>b</sup>	1,17		
45	10,47 <sup>a</sup>	0,25			27,54 <sup>b</sup>	0,26		
60	8,91	0,02			14,13	0,02		
75	7,59				4,37			
90	3,63				2,88			
105	2,63				1,48			
120	2,34				0,50			

\* 6 párhuzamos vizsgálat átlaga

<sup>a,b</sup> Az azonos sorban szereplő eltérő betűk szignifikáns különbséget jeleznek (P < 0,05)

80 °C-on végzett hőkezelés során a hőntartási idő 15., 30. és 45. percében a kacsamáj félkonzervben a túlélő spórák száma szignifikánsan (P < 0,05) nagyobb volt, mint a modell tápközegben. A hőkezelés végén, azaz a 120. percben nem volt különbség a *C. perfringens* NCTC 1265 spórák túlélési arányában. 85 °C-on a kiindulási spóraszámhoz viszonyítva a 15. percben a félkonzervben volt szignifikánsan (P < 0,05) nagyobb a túlélő *C. perfringens* NCTC 1265 spórák száma. 90 °C-on a 2., 4. és 10. hőntartási idő után a modell tápközegben volt statisztikailag igazolható (P < 0,05) mértékben nagyobb a túlélő *C. perfringens* NCTC 1265 spórák aránya. 95 °C-on a hőkezelés 2. percében volt szignifikánsan (P < 0,05) nagyobb a túlélő spórák aránya a modell tápközegben, azonban a hőkezelés végén nem

mutatkozott különbség a modell tápközegben és a kacsamáj félkonzervben túlélt spórák százalékos aránya közt.

A **27. táblázatban** foglaltam össze a *C. sordellii* ATCC 9714 endospórák túlélési százalékát. A 80 °C-on végzett hőtűrési vizsgálat során 30 és a 90 perces hőntartás után a modell tápközeg túlélő *C. sordellii* ATCC 9714 spóraszám szignifikánsan nagyobb ( $P < 0,05$ ) volt, mint a *Clostridium sordellii*-vel mesterségesen befertőzött kacsamáj félkonzerv túlélő spóraszám. 85 °C-on a 30 és a 60 perces, 90 °C-on a 12. és a 36. perces, míg 95 °C-on a 6 és a 12 perces hőkezelés után a modell tápközegben statisztikailag igazolhatóan ( $P < 0,05$ ) nagyobb volt a túlélő *C. sordellii* ATCC 9714 spóraszám.

**27. táblázat** *Clostridium sordellii* ATCC 9714 spórák túlélésének alakulása modell tápközegben, illetve a kacsamáj félkonzervben

Hőntartási idő (min)	<i>Clostridium sordellii</i> ATCC 9714 endospórák túlélési százaléka (%)*							
	Modell tápközeg				Kacsamáj félkonzerv			
	80 °C	85 °C	90 °C	95 °C	80 °C	85 °C	90 °C	95 °C
0	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
6				30,91 <sup>a</sup>				25,70 <sup>b</sup>
12			19,95 <sup>a</sup>	15,14 <sup>a</sup>			19,05 <sup>b</sup>	11,48 <sup>b</sup>
18				1,23				1,26
24			11,75	0,58			11,48	0,59
30	66,07 <sup>a</sup>	28,18 <sup>a</sup>		0,25	64,57 <sup>b</sup>	26,30 <sup>b</sup>		0,26
36			5,50 <sup>a</sup>	0,06			5,01 <sup>b</sup>	0,05
48			1,95				1,91	
60	50,12	16,60 <sup>a</sup>	1,12		51,29	14,79 <sup>b</sup>	1,15	
72			0,69				0,68	
84			0,36				0,38	
90	34,67 <sup>a</sup>	8,51			32,36 <sup>b</sup>	8,13		
96			0,22				0,21	
120	20,42	4,68			19,50	4,17		

\* 6 párhuzamos vizsgálat átlaga

<sup>a,b</sup> Az azonos sorban szereplő eltérő betűk szignifikáns különbséget jeleznek ( $P < 0,05$ )

---

A **28. táblázatban** látható az *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 élősejtek túlélési százaléka a modell tápközegben és a kacsamáj félkonzervben. Elmondható, hogy 60 °C-on történt hőkezelés során a 10 perces hőkezelés után a modell tápközegben, a 20 és 30 perces hőkezelést követően a kacsamáj félkonzervben statisztikailag igazolható ( $P < 0,05$ ) mértékben nagyobb volt a túlélő sejtek aránya, mint a modell tápközegben. A kacsamáj félkonzervvel 62 °C-on végzett hőtűrési vizsgálat elvégzése után megállapítottam, hogy 5 és 10 perces hőntartás után szignifikánsan ( $P < 0,05$ ) nagyobb volt a kacsamáj félkonzervben az *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 sejtek túlélő aránya a modell tápközeghez viszonyítva. 65 °C-on elvégzett hőkezelés eredményeként elmondható, hogy a modell tápközegben szignifikánsan ( $P < 0,05$ ) nagyobb volt a túlélő sejtek százalékos aránya a 0,5. és az első percben.

**28. táblázat** *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 sejtek túlélésének alakulása modell tápközegben, illetve a kacsamáj félkonzervben

Hőntartási idő (min)	<i>Enterococcus faecalis</i> HNCMB 80171 élősejtek túlélési százaléka (%) <sup>*</sup>					
	Modell tápközeg			Kacsamáj félkonzerv		
	60 °C	62 °C	65 °C	60 °C	62 °C	65 °C
0	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
0,5			64,57 <sup>a</sup>			38,02 <sup>b</sup>
1			39,81 <sup>a</sup>			25,70 <sup>b</sup>
1,5			25,70			25,12
2			11,75			12,30
2,5			7,24			6,03
3			4,47			4,27
3,5			2,69			3,98
4			1,45			3,47
4,5			0,96			2,24
5		5,62 <sup>a</sup>	0,85		18,20 <sup>b</sup>	2,19
10	15,14 <sup>a</sup>	1,26 <sup>a</sup>		13,18 <sup>b</sup>	7,76 <sup>b</sup>	
15		0,21			1,74	
20	0,24 <sup>a</sup>	0,08		4,68 <sup>b</sup>	0,60	
25		0,02			0,21	
30	0,13 <sup>a</sup>			3,39 <sup>b</sup>		
35	0,10			1,12		
40	0,04			0,71		
45	0,03			0,58		
50	0,03			0,54		
55	0,02			0,49		
60	0,02			0,35		

\* 6 párhuzamos vizsgálat átlaga

<sup>a,b</sup> Az azonos sorban szereplő eltérő betűk szignifikáns különbséget jeleznek (P < 0,05)

## 5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Víziszárnyas májból készült félkonzervek gyártásában hazánk versenyképes lehetne a francia piacon kapható hasonló termékekkel, ha az anaerob endospórák mikrobaszám tekintetében megfelelő májalapanyag kerülne előállításra. Egy másik lehetőség, hogy a francia alapanyagnál nagyobb spóraszámú hazai félkonzervek hőkezelését lecsökkentsük a francia gyártmányokéhoz hasonló szintre. Ekkor viszont igazolnunk kell, hogy ez a hőkezelés elégséges legalább két nagyságrendnyi spóraszám csökkentéshez. A hőkezelés azonos szintre hozása esetén a magyar készítmények íz és aroma világa, illetve beltartami értékei a külföldi termékekkel azonos szintre kerülhetnek.

A vizsgált nyers kacsamáj minták mikrobiológiai szempontból megfeleltek a 4/1998 EüM rendeletben feltüntetett határértékeknek, azonban a rendelet nem terjed ki a spórás mikroorganizmusok meghatározására, pedig a félkonzervek túlélő flórájában előfordulhatnak. Az általam vizsgált 20 kacsamáj közül 13 mintából mutattam ki *Clostridium perfringens*-t 10 CFU/g alatti mennyiségben. Ennek oka valószínűleg a nem megfelelő gyártástechnológia (bontás, zsigerezés, tárolás), amelynek kiküszöbölése elengedhetetlen a megfelelő minőségű termék előállításához. A zsigerezés utáni mikrobiológiai állapotot kellene detektálni a németországi vágóhidakhoz hasonlóan. Az eljárás során 10x10 cm<sup>2</sup> felületről vett mintavételt követően határoznánk meg a szalmonella jelenlétét, vagy hiányát. Ez egyben alkalmas lenne *Clostridium*-szám meghatározására is.

A *Clostridium perfringens* és a *Clostridium sordellii* hőpusztulásának, technológiai paramétereinek meghatározását indokolta egyrészt az, hogy a

*C. perfringens* jelenlétét saját vizsgálataim során is igazoltam, másrésztől a *C. sordellii*-t kimutatták hazai libamájból.

A hőpusztulási vizsgálatokhoz meghatároztam a legmegfelelőbb szaporító és spóráztató tápközegeket. A *Clostridium perfringens* (NCAIM-B-01417 és NCTC 1265), a *Clostridium sordellii* ATCC 9714 és az *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 törzsek felélesztésére és elszaporítására ajánlható a Reinforced Clostridial Medium (RCM), valamint az agyszív-tápleves tápleves (Merck KgaA, Darmstadt) alkalmazása. A két spórás mikroba (*C. perfringens* és *C. sordellii*) RCM levestől történő tisztítására javaslom a steril centrifugacsövekbe történő szétosztás utáni többszöri centrifugálást 4500 g-n, 15 percig temperált körülmények (10 °C) között.

A *Clostridium perfringens* (NCAIM-B-01417 és NCTC 1265) törzsek spóráztatására kiválasztott Duncan és Strong (1968), Ellner (1956) és Kim és munkatársai (1967) által javasolt tápleves közül szignifikánsan ( $P < 0,05$ ) nagyobb mennyiségben a Duncan és Strong (1968) által ajánlott táplevessel sikerült spórát előállítani, ezért javaslom ezen mikrobáknál e tápleves alkalmazását. A *Clostridium sordellii* ATCC 9714 törzs spóráztatására Schaeffer és munkatársai (1963) által javasolt tápleves megfelelőnek bizonyult  $10^5$  CFU/cm<sup>3</sup> mennyiségű spóra előállítására.

A hőkezelési vizsgálatok eredményei alapján a *Clostridium perfringens* NCTC 1265 törzs tizedelési ideje modell tápközegben 75,2 perc ( $D_{80}$ ) és 2,3 perc ( $D_{95}$ ) között, míg kacsamáj félkonzervben 50,5 perc ( $D_{80}$ ) és 2,2 perc ( $D_{95}$ ) között alakult. A *C. sordellii* ATCC 9714 spóraszám a kacsamáj félkonzervben 100 °C alatti hőkezelés esetén, 90 °C-on 76,0 perc, 95 °C-on 22,2 perc alatt csökkenthető 2 nagyságrenddel. Az *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 tizedelési ideje modell tápközegben 15,7 perc ( $D_{80}$ )



és 2,3 perc, míg a kacsamáj félkonzervben ( $D_{95}$ ) 25,9 perc ( $D_{80}$ ) és 3,1 perc ( $D_{95}$ ) között alakult.

Össességében elmondható, hogy a modell tápközegben elvégzett hőkezelési kísérletek eredményei szignifikánsan ( $P < 0,05$ ) nem különböznek a kacsamáj félkonzerv hőpusztulási eredményeitől.

Az eredmények tükrében javaslok, amennyiben a félkonzervben mindhárom mikroba előfordulásával számolunk, a nagyobb hőrezisztenciájú mikroba hőtűréséhez igazodva kell meghatározni a hőterhelés nagyságát. Figyelembe lehet venni *C. sordellii* esetében, hogy a jó higiéniai gyakorlat (GHP) betartásával ritkán és kisebb számban fordulhat elő.

## 6. ÖSSZEFOGLALÁS

A hízott víziszárnyas máj előkelő helyet foglal el az úgynevezett hungarikumok sorában, azonban megfigyelhető a kereslet csökkenése. Ennek oka egyrészt a víziszárnyas máj nem minden vonatkozásban megfelelő mikrobiológiai minősége, másrészt, hogy nem rendelkezünk saját víziszárnyas májból készült félkonzerv készítménnyel.

Korábbi vizsgálatok során víziszárnyas májból izoláltak *Clostridium perfringens* és *Clostridium sordellii* mikroorganizmusokat, amelyek jelenléte a nem megfelelő feldolgozási technológiával, illetve a jó higiéniai gyakorlat be nem tartásával magyarázható. Dolgozatomban arra kerestem a választ, hogy a félkonzervben esetlegesen előforduló *Clostridium perfringens*, *Clostridium sordellii* és *Enterococcus faecalis* mikroorganizmusok száma 100 °C alatt milyen hőkezelési hőmérséklet és hőntartási idő alkalmazása mellett csökkenthető 2 nagyságrenddel. Célkitűzéseim a következők voltak:

- A felhasznált kacsamáj mikrobiológiai állapotának meghatározása és összevetése a 4/1998 EüM rendelet (hatályos: 2007.11.06.) előírásaival.
- Irodalmi adatok és saját vizsgálatok alapján meghatározni nyers hízott kacsamáj jellemző leghőtűrőbb mikroorganizmusait, illetve előfordulásuk gyakoriságát.
- Táplevesek kiválasztása *Clostridium perfringens* (NCAIM-B-01417 és NCTC 1265) és *Clostridium sordellii* ATCC 9714 törzsek optimális spóratermeléséhez, valamint egy *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 törzs legintenzívebb szaporodásához. Spóráztatási kísérletek segítségével kiválasztani a nagyobb mennyiségben spórát termelő *Clostridium perfringens* törzset.

- 
- Előzetes vizsgálatok alapján meghatározni 100 °C alatti hőmérsékleten az optimális hőkezelési hőmérsékletet és hőntartási időt, egyrészt a leghőtűrőbb nem spórás ubiquiter mikroflóra vezéralakjának az *Enterococcus faecalis*-nak és a félkonzerv, illetve a *Clostridium* fajok esetében a háromnegyed vagy teljes konzerv előállításához.
  - A hazai és a nemzetközi termékpalettát alapul véve egy kacsamáj félkonzerv előállítási technológiájának kidolgozása.
  - Mesterségesen, mikrobákkal (*Clostridium* és *Enterococcus* fajok) befertőzött kacsamáj félkonzervben hőpusztítási vizsgálatok elvégzése.

Ellenőriztem a kísérletekhez felhasznált nyers kacsamáj mikrobiológiai állapotát, amely megfelelt a 4/1998 EüM rendelet darabolt húsról, belsőségre, darált húsról, baromfira (nyers, egész és darabolt) vonatkozó előírásainak. A rendeletben foglaltakon kívül meghatároztam a mezofil szulfitredukáló klosztridium, ezen belül a *Clostridium perfringens* és *Clostridium sordellii* számot, valamint az *Enterococcus faecalis* és *Enterococcus faecium* baktériumot. A vizsgált 20 nyers kacsamáj mintában nem találtam *Clostridium sordellii*, *Enterococcus faecalis* és *Enterococcus faecium* baktériumot, azonban *C. perfringens* 13 mintából volt kimutatható 10 CFU/g alatti mennyiségben.

A *Clostridium perfringens* (NCAIM-B-01417 és NCTC 1265), valamint a *Clostridium sordellii* ATCC 9714 törzsek spóratermelésének elősegítése céljából a szakirodalomban fellelhető spóráztató tápleveseket választottam ki. A *Clostridium perfringens* (NCAIM-B-01417 és NCTC 1265) törzsek esetében alkalmazott táplevesek (Ellner, 1956; Kim és munkatársai, 1967; Duncan és Strong, 1968) közül a Duncan és Strong (1968)

által javasolt táplevessel állítottam elő szignifikánsan ( $P < 0,05$ ) nagyobb spóramennyiséget. A két vizsgált *C. perfringens* (NCAIM-B-01417 és NCTC 1265) törzs közül az NCTC 1265 törzssel statisztikailag igazolhatóan ( $P < 0,05$ ) nagyobb mennyiségben nyertem spórát. A *Clostridium sordellii* ATCC 9714 törzs spóratermelésének elősegítésére Schaeffer és munkatársai (1963) által ajánlott tápleves bizonyult megfelelőnek.

A spóráztatás után elvégeztem a hőtűrési vizsgálatokat. A modell tápközegben végzett hőtűrési kísérletek eredményei alapján elmondható, hogy a tizedelési idő (D) *Clostridium perfringens* NCTC 1265 spórák esetében vizsgálataim szerint 75,2 perc ( $D_{80}$ ) és 2,3 perc ( $D_{95}$ ) között alakult, a  $z$  érték 10,4 °C volt. *Clostridium sordellii* ATCC 9714 törzs esetében ennél magasabb értékeket állapítottam meg: a tizedelési idő (D) 181,8 perc ( $D_{80}$ ) és 11,0 perc ( $D_{95}$ ) között alakult, a  $z$  érték 12,3 °C volt. Az *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 hőtűrésének vizsgálata alapján megállapítható, hogy a tizedelési idők  $D_{60}$  15,7 perc és  $D_{65}$  2,3 perc között alakultak, míg a számított  $z$  értéke 6,0 °C.

A termékfejlesztés részeként elkészítettem egy kacsamáj félkonzervet, amelyet mesterségesen befertőttem *Clostridium sordellii* ATCC 9714 és *Clostridium perfringens* NCTC 1265 spóraszuszpenzióval, valamint *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 törzssuszpenzióval úgy, hogy a félkonzervben lévő mikroorganizmus mennyisége elérje a minimum  $10^5$  CFU/g nagyságrendet, majd elvégeztem a félkonzervvel a hőkezelési vizsgálatokat.

A félkonzervek hőkezelésénél az ipar a gyakorlatban 100 °C-nál magasabb hőmérsékletet alkalmaz a spórák mikrobák elpusztítása érdekében, ezért a hőtűrési vizsgálatok során arra kerestem a választ, hogy 100 °C alatti hőmérsékleteken történő hőkezelések esetében milyen behatási idővel lehet 2

---

nagyságrenddel csökkenteni a spóra, illetve sejtszámot. A félkonzervek esetében azért szükségesek a 100 °C alatti hőkezelések, mert ezzel megőrizhetőek az organoleptikus tulajdonságok, és a termék minősége versenyképes lehet a hasonló francia termékekkel szemben.

A félkonzervek hőkezelése során megállapítottam, hogy a *Clostridium perfringens* NCTC 1265 tizedelési ideje 50,5 perc ( $D_{80}$ ) és 2,2 perc ( $D_{95}$ ), a  $z$  érték 11,1 °C volt. *Clostridium sordellii* ATCC 9714 esetében vizsgálataim szerint a tizedelési idő ( $D$ ) 175,4 perc ( $D_{80}$ ) és 11,1 perc ( $D_{95}$ ) között alakult, a  $z$  értéke 12,6 °C volt. Az *Enterococcus faecalis* HNCMB 80171 hőtűrésének vizsgálata alapján a tizedelési idő 60 °C-on 25,9 perc, 65 °C-on 3,0 perc, számított  $z$  értéke 5,5 °C.

Összességében, a hőtűrés vizsgálatok eredményei alapján elmondható, hogy a modell tápközegben a hőkezelés hatékonysága szignifikánsan ( $P < 0,05$ ) nem különbözött a félkonzervben elvégzett hőkezelési kísérletek eredményeitől.

## ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

AZ előző fejezetek alapján az elért új és újszerű kutatási eredmények összefoglalva a következők:

1. A hazai nyers víziszárnyas májak mikrobiológiai minősítése-amennyiben félkonzerv gyártási szempontokat is figyelembe veszünk-nem megfelelő. A vizsgálatokat a német szabvány (ASU L 00.00-20) szerinti szalmonella meghatározáshoz alkalmazott mintavételi módszer felhasználásával anaerob spórás mikrobaszám meghatározásra is ki kell terjeszteni.
2. A *Clostridium perfringens* (NCAIM-B-01417 és NCTC 1265) spóráztatására kiválasztott Duncan és Strong (1968), Ellner (1956), valamint Kim és munkatársai (1967) által javasolt táplevesek közül a Duncan és Strong (1968) által ajánlott tápleves segítségével sikerült szignifikánsan ( $P < 0,05$ ) nagyobb mennyiségben endospórákat előállítani. A *Clostridium sordellii* ATCC 9714 törzs endospóra termelésének elősegítésére Schaeffer és munkatársai (1963) által javasolt tápleves bizonyult a legalkalmasabbnak.
3. Irodalmi hivatkozások hiányában meghatároztam víziszárnyas készítményekben fellelhető *Clostridium sordellii* ATCC 9714 100 °C alatti hőpusztításának lehetőségeit. Megállapítottam, hogy a félkonzerv 100 °C alatti hőkezelése esetén, 90 °C-on 76,0 perc, 95 °C-on 22,2 perc alatt csökkenthető a vizsgált törzs endospóra száma a biztonságos májkészítmények előállításához szükséges 2 nagyságrenddel. Irodalmi adatok alapján hasonló spóraszám csökkenés ezzel a hődózissal a *Clostridium botulinum* E esetén is

elérhető. A *C. sordellii* ATCC 9714 számított  $z$  értéke 12,6 °C.

4. A *Clostridium perfringens* NCTC 1265 törzs tizedelési ideje kacsamáj félkonzervben 50,5 perc ( $D_{80}$ ) és 2,2 perc ( $D_{95}$ ) között alakult. Irodalmi adatokkal összehasonlítva megállapítható, hogy az általam mért tizedelési idők rövidebbek, mint a szakirodalomban feltüntetettek. A *C. perfringens* NCTC 1265  $z$  értéke 11,1 °C volt, míg más szerzők 8,3 °C – 16,8 °C közötti értékekről számoltak be.
5. A modell tápközegbe és a kacsamáj félkonzervbe injektált, általam vizsgált mikroorganizmusok (*Clostridium perfringens*, *Clostridium sordellii*, *Enterococcus faecalis*) hőpusztulása között nem találtam szignifikáns ( $P < 0,05$ ) eltérést.

---

**AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN ÍRT TUDOMÁNYOS  
KÖZLEMÉNYEK, ELŐADÁSOK**

**LEKTORÁLT TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK (PEER  
REVIEWED PAPERS)**

**Angolul (In English)**

**Zs. Sipos-Kozma**, J. Szigeti, L. Varga, B. Ásványi, N. Ásványi-Molnár, Zs. Turcsán (2008) Determining the parameters of mild heat treatment destroying *Clostridium perfringens*. *Hungarian Agricultural Engineering* **21**, 70-72.

**Zs. Kozma-Sipos**, J. Szigeti, B. Ásványi, L. Varga (2009) Heat resistance of *Clostridium sordellii* spores. *Anaerobe* (benyújtva, lektorálva)

**Magyarul (In Hungarian)**

**Sipos-Kozma, Zs.**, Ásványi, B., Szigeti, J., Varga, L. (2009) Spórás baktériumok hőpusztulása 100 °C alatti hőkezelés esetében. *Acta Agronomica Óváriensis* (megjelenés alatt)

**Sipos-Kozma Zs.**, Szigeti, J., Varga, L., Ásványi, B. (2009) *Clostridium perfringens* spórák hőtűrésének vizsgálata. *Acta Agraria Kaposváriensis* (megjelenés alatt)



---

**TUDOMÁNYOS KONFERENCIÁK TELJES TERJEDELEMBEN  
MEGJELENT ANYAGAI (PAPERS PUBLISHED IN PROCEEDINGS)****Angolul (In English)**

**Sipos-Kozma, Zs.**, Szigeti, J., Ásványi, B. (2008) Reducing spore counts in foods by mild heat treatment. International Conference on Science and Technique in the Agri-Food Business (ICoSTAF 2008), ISBN 978-963-482-908-9, November 5-6, 2008 Szeged pp. 170-176.

**Magyarul (In Hungarian)**

Szigeti, J., Varga, L., Ásványi, B. és **Sipos-Kozma, Zs.** (2008) Élelmiszerekben előforduló anaerob spórások kíméletes hőkezelése (Mild heat treatment of anaerobic foodborne sporeformers). *XXXII. Óvári Tudományos Napok „Élelmiszergazdaságunk Kérdőjelei Napjainkban”* ISBN 978-963-9883-05-5. Az előadások és poszterek teljes terjedelemben megjelent anyagai, Élelmiszer-tudományi Szekció, Mosonmagyaróvár, Compact Disc. (Az előadások és poszterek összefoglaló anyaga, Élelmiszer-tudományi Szekció, Mosonmagyaróvár) pp.1-6.

## **KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS**

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. habil Szigeti Jenő professzor Úrnak, aki biztosította számomra a kutatómunka elvégzésének feltételeit és iránymutatásával, tanácsaival és dolgozatom javítását szolgáló kritikai észrevételeivel segítette munkámat.

Köszönettel tartozom társkonzulensemnek, Dr. Ásványi Balázs egyetemi adjunktus Úrnak szakmai tanácsaiért és segítőkészségéért.

Kollégáim: Dr. Varga László, Dr. Krász Ádám, Dr. Farkas László, Ásványi-Molnár Noémi, Tóth Ágnes, Lökösházi Éva segítő tanácsai, valamint Ankhelyi Istvánné, Göncz Ferencné és Németh Ferenc laboratóriumi munkában nyújtott segítsége nagyban támogatta munkámat. Ezúton szeretném megköszönni a GAK-05\_KACSA (A magyar májkacsa ágazat komplex fejlesztése különös tekintettel a hizlalás optimalizálására kacsamáj és húskészítmények innovációjára) pályázat konzorciumi partnereinek közreműködését, valamint a Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet dolgozóinak a kísérleteim kivitelezése során nyújtott segítségét.

Szeretnék köszönetet mondani férjemnek, családomnak és barátaimnak, akik szeretetükkel, megértésükkel támogattak és ha nehézségekbe ütköztem bátorítottak.

## 7. IRODALOMJEGYZÉK

4/1998 EüM rendelet: *Az élelmiszerekben előforduló mikrobiológiai szennyeződések megengedhető mértékéről*

Aarestrup, F.M., Hasman, H., Jensen, L.B., Moreno, M., Herrero, I.A., Domínguez, L., Finn, A. & Franklin, A. (2002) Antimicrobial resistance among enterococci from pigs in three European countries. *Applied and Environmental Microbiology* **68**, 4127-4129.

Abdulla, A. & Yee, L. (2000) The clinical spektrum of *Clostridium sordelli* bacteraemia: two case reports and a review of the literature. *American Journal of Clinical Pathology* **53**, 709-712.

Aldape, M.J., Bryant, A.E. & Stevens, D.L. (2006) *Clostridium sordellii* infection: Epidemiology, clinical findings, and current perspectives on diagnosis and treatment. *Clinical Infectious Diseases* **43**,1436-46.

Alderton, G., Chen, J.K. & Ito, K.A. (1974). Effect of lysozyme on the recovery of heated *Clostridium botulinum* spores. *Applied Microbiology* **27**, 613–615.

Alföldy, Z., Ivánovics, Gy. & Rauss, K. (1963) Orvosi Mikrobiológia. Medicina Egészségügyi Könyvkiadó, Budapest, 348-352.

Asselt, E.D. & Zwietering, M.H. (2006) A systematic approach to determine global thermal inactivation parameters for various food pathogens. *International Journal of Food Microbiology* **107**, 73 – 82.

ASU L 00.00-20 (2004) Untersuchung von Lebensmitteln - Horizontales Verfahren zum Nachweis von *Salmonella* spp. in Lebensmitteln (Übernahme der gleichnamigen Norm DIN EN ISO 6579, Ausgabe März 2003)

- ASU L 00.00-55 (2004) Untersuchung von Lebensmitteln - Verfahren für die Zählung von koagulase-positiven Staphylokokken (*Staphylococcus aureus* und andere Spezies) in Lebensmitteln - Teil 1: Verfahren mit Baird Parker Agar (Übernahme der gleichnamigen Norm DIN EN ISO 6888-1, Ausgabe Dezember 2003)
- ASU L 06.00-18 (1996) Untersuchung von Lebensmitteln; Bestimmung der aeroben Keimzahl bei 30 °C in Fleisch und Fleischerzeugnissen; Spatel- und Plattengußverfahren (Referenzverfahren)
- ASU L 06.00-32 (1996) Untersuchung von Lebensmitteln - Bestimmung von *Enterococcus faecalis* und *Enterococcus faecium* in Fleisch und Fleischerzeugnissen; Spatelverfahren (Referenzverfahren) (Übernahme der gleichlautenden Deutschen Norm DIN 10106, Ausgabe September 1991)
- ASU L 06.00-36 (1996) Untersuchung von Lebensmitteln - Bestimmung von *Escherichia coli* in Fleisch und Fleischerzeugnissen - Fluoreszenzoptisches Koloniezählverfahren unter Verwendung von Membranfiltern-Spatelverfahren (Referenzverfahren) (Übernahme der gleichlautenden Deutschen Norm DIN 10110, Ausgabe August 1994)
- Atrih, A. & Foster, S.J. (2001) Analysis of the role of bacterial endospore cortex structure in resistance properties and demonstration of its conservation amongst species. *Journal of Applied Bacteriology* **91**, 1-9.
- Atrih, A. & Foster, S.J. (2002) Bacterial endospores the ultimate survivors. *International Dairy Journal* **12**, 217-223.
- Atrih, A., Zöllner, P., Allmaier, G. & Foster, S.J. (1996) Structural analysis of *Bacillus subtilis* 168 endospore peptidoglycan and its role during differentiation. *Journal of Bacteriology* **178**, 6173-6183.

- Atrih, A., Zöllner, P., Allmaier, G., Williamson, M. & Foster, S.J. (1998) Peptidoglycan structural dynamics during germination of *Bacillus subtilis* 168 endospores. *Journal of Bacteriology* **180**, 4603-4612.
- Aufray, P. & Blum, J.C. (1970) Hyperphagie et stéatose hépatique chez l'oie après lésion du noyau ventro-médian de l'hypothalamus. C.R. Acad. Sci., 270. 2362-2365.
- Beerens, H., Sugama, S. & Tahon-Castel, M. (1965) Psychrotrophic clostridia. *Journal of Applied Bacteriology* **28**, 36-48.
- Bíró, L. (1993) Élelmiszer-higiéna. Agroiinform Kiadó és Nyomda, Budapest, 56; 103.
- Bogenfürst, F. (1992) Lúdtenyésztők kézikönyve. Új Nap Lap és Könyvkiadó, Budapest, 267.
- Bogenfürst, F. (1999) Kacsák Házikacsák, Pézsmarécék, Mulardkacsák, Díszrécék. Gazda Kiadó, Budapest, 186.
- Bogenfürst, F. (2000) A hazai májtermelés piacképességéről. A Baromfi. 3. (5): 64-69.
- Borgen, K., Sorum, M., Wasteson, Y. & Kruse, H. (2001) VanA-type vancomycin-resistant enterococci (VRE) remain prevalent in poultry carcasses 3 years after avoparcin was banned. *Food Microbiology* **64**, 89-84.
- Bradshaw, J.G., Peeler, J.T. & Twedt, R.M. (1977) Thermal inactivation of ileal loop-reactive *Clostridium perfringens* type A strains in phosphate buffer and beef gravy. *Applied and Environmental Microbiology* **34**, 280-284.
- Bryant, A.E., Bayer, C.R., Aldape, M.J., Wallace, R.J., Titball, R.W. & Stevens, D.L. (2006) *Clostridium perfringens* phospholipase C-induced platelet/leukocyte interactions impede neutrophil diapedesis. *Journal of Medical Microbiology* **55**, 495-504.

- Bucknave, M.W., Pierson, M.D., Hackney, C.R. & Bishop, J.R. (1990) Thermal inactivation of *Clostridium botulinum* type E spores in oyster homogenates at minimal processing temperatures. *Journal of Food Science* **55**, 372–373.
- Byrne, B., Dunne, G. & Bolton, D.J. (2006) Thermal inactivation of *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens* vegetative cells and spores in pork luncheon roll. *Food Microbiology* **23**, 803–808.
- Campbell, S. & Ramaswamy, H.S. (1992) Heating rate, lethality and cold spot location in air entrapped retort pouches during overpressure processing. *Journal of Food Science* (57)(29) 485-489.
- Cano, R.G. & Borucki, M.K. (1995) Revival and identification of bacterial spores in 25-million-year-old to 40-million-year-old Dominican amber. *Science* **268**,1060-1064.
- Centers for disease control and prevention (CDC) (2005) Information about *Clostridium sordellii*, Atlanta
- Centre De Recherche Appliquée En Agro-Alimentaire (1999) Proposition d'un cahier des charges sur la production de foie gras d'oie. *Jelentés*, 1-17.
- Chapel, T., Brown, W.J., Jefferies, C. & Stewart, J.A. (1978) The microbiological flora of penile ulcerations. *Clinical Infectious Diseases* **137**, 50-56.
- Ciarciaglini, G., Hill, P.J., Davies, K., McClure, P.J., Kilsby, D., Brown, M.H. & Coote, P.J. (2000) Germination-induced bioluminescence, a route to determine the inhibitory effect of a combination preservation treatment on bacterial spores. *Applied and Environmental Microbiology* **66**, 3735-3742.
- Collie, R.E. & McClane, B.A. (1998) Evidence that the enterotoxin gene can be episomal in *Clostridium perfringens* isolates associated with non-food-

- 
- borne human gastrointestinal diseases. *Journal of Clinical Microbiology* **36**, 30-36.
- Craven, S.E. (2001) Occurrence of *Clostridium perfringens* in the broiler chicken processing plants as determined by recovery in iron milk medium. *Journal of Food Protection* **64**, 1956-1960.
- Davies, R. & Roberts, T.A. (1999) Antimicrobial susceptibility of enterococci recovered from commercial swine carcass: effect of feed additives. *Letters in Applied Microbiology* **29**, 327-333.
- de Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A., Schleifer, K.H. & Whitman, W.B. (2009) The Firmicutes. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Original published by Williams & Wilkins, Hardcover, 1450.
- Deák, T. (2006) Élelmiszer-mikrobiológia. Mezőgazda Kiadó, Budapest, 48.; 138.
- Deák, T., Farkas, J. & Incze, K. (1980) Konzerv-, hús- és hűtőipari mikrobiológia. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 126; 229.
- Deák, T., Luksovics, F., Reichardt, O. & J. Román, M. (1999) Mikrobiológiai gyakorlatok II. Interagent Kiadó és Nyomda Kft, Budapest, 67-72.
- Devriese, L.A., Pot, B. & Collins, M.D. (1993) Phenotypic identification of the genus *Enterococcus* and differentiation of phylogenetically distinct enterococcal species and species groups. *Journal of Applied Bacteriology* **75**, 399-408.
- Driks, A. (1999) *Bacillus subtilis* spore coat. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. **63**, 1-20.
- Duncan, C.L. & Strong, D.H. (1968) Improved medium for sporulation of *Clostridium perfringens*. *Applied Microbiology* **16**, 82-89.

- Duncan, D.B. (1975) t-tests and intervals for comparison suggested by the data. *Biometrics* **31**, 339-359.
- Eisner, M. (1979) Die Pasteurization von Schinken-Halbkonserven mit Hilfe der selektiven Stufenverfahrens. *Fleischwirtschaft* **59**(10), 1443-1451.
- Ellner, P.D. (1956) A medium promoting rapid quantitative sporulation in *Clostridium perfringens*. *Journal of Bacteriology* **71**, 495-796.
- Elmes, M.L., Wilkins, P.O. & Fitz-James, P.C. (1983) An electron spin resonance investigation of *Bacillus megaterium* KM spores inner and cell membranes. *Canadian Journal of Microbiology* **29**, 815-818.
- Farkas, J., Kiss, I., Ormay, L., Takács, J. & Vörös, J. (1978) Mikrobiológiai vizsgálati módszerek az élelmiszeriparban 2. Minőségi vizsgálatok (A mikroorganizmusok vizsgálata). Mezőgazdasági Könyvkiadó Vállalat, Budapest, 115-117.
- Felix, B., Aufray, P. & Marcilloux, J.C. (1980) Effect of induced hypothalamic hyperphagia and force feeding on organ weight and tissular development in landes geese. *Reproduction Nutrition Development* **20**(3), 709-717.
- Finegold, S.M., Sutter, V.L. & Mathisen, G.E. (1983) Normal indigenous intestinal flora In Hentges (ed.), human Intestinal Microflora in Health and Disease, Academic Press, Nem York, 3-31.
- Flambert, F. & Deltour, J. (1972) Localization of the critical area in thermally processed conduction heated canned food. *Lebensmittelwissenschaft und Technologie* **5**(1), 7-13.
- Gaze, J.E. & Brown, G.D. (1990) Determination of the heat resistance of a strain of non-proteolytic *Clostridium botulinum* type B and a strain of type E, heated in cod and carrot homogenate over the temperature range 70 to 92 -C. Technical Memorandum, vol. 592. Campden Food and Drink Research Association, Gloucestershire, UK, pp. 1 – 34.



- 
- Gerhardt, P. & Marquis, R.E. (1989) Spore thermoresistance mechanisms. In Smith, I., Slepecky, R. & Setlow, P. (eds.) Regulation of procaryotic development (pp. 43-63.). Washington, DC: *American Society for Microbiology*.
- Hall, I.C. & Scott, J.J.P. (1927) *Bacillus sordellii*, a cause of malignant edema in man. *Journal Of Infectious Diseases* **41**, 329-35.
- Hall, I.C., Jungherr, E. & Rymer, M.R. (1929) Comparative study of *Bacillus sordellii* (Hall and Scott) and *Clostridium oedematoides* (Meleney, Humphreys, and Carp.). *Journal Of Infectious Diseases* **45**, 42-66.
- Hall, J.D. & Angelotti, R. (1965) *Clostridium perfringens* in meat and meat products. *Journal of Applied Microbiology* **13**, 352-357.
- Hardie, J.M. & Whiley, R.A. (1997) Classification and overview of the genera *Streptococcus* and *Enterococcus*. *Journal of Applied Microbiology. Symposium Supplement* **83**, 1–11.
- Heredia, N.L., García, G.A., Luévanos, R., Labbe, R.G. & García-Alvarado, J.S. (1997) Elevation of the heat resistance of vegetative cells and spores of *Clostridium perfringens* type A by sublethal heat shock. *Journal of Food Protection* **60**, 998–1000.
- Hobbs, B.C., Smith, M.E., Oakley, C.L., Warrack, G.H. & Cruickshank, J.C. (1953) *Clostridium welchii* food poisoning. *International Journal of Hygiene and Environmental Health, Camb.*, 51;75.
- Juneja, V.K., Eblen, B.S., Marmer, B.S., Williams, A.C., Palumbo, S.A. & Miller, A.J. (1995) Thermal resistance of nonproteolytic type B and E *Clostridium botulinum* spores in phosphate buffer and turkey slurry. *Journal of Food Protection* **58**, 758– 763.

- Juneja, V.K., Novak, J.S., Huang, L. & Eblen, B.S. (2003) Increased thermotolerance of *Clostridium perfringens* spores following sublethal heat shock. *Food Control* **14**, 163–168.
- Kawasaki, J., Nakagawa, T., Nishiyama, Y., Benno, Y., Uchimura, T., Komagata, K., Kozaki, M. & Niimura, Y. (1998) Effect of Oxygen on the Growth of *Clostridium butyricum* (Type Species of the Genus *Clostridium*), and the Distribution of Enzymes for Oxygen and for Active Oxygen Species in *Clostridia*. *Journal of Fermentation and Bioengineering* **86**, 368-372.
- Kim, C.H., Cheney, R. & Woodburn, M. (1967) Sporulation of *Clostridium perfringens* in a modified medium and selected foods. *Journal of Applied Microbiology* **15**, 871-876.
- Klein, G., Pack, A. & Reuter, G. (1998) Antibiotic resistance patterns of enterococci and occurrence of vancomycin-resistant enterococci in raw minced beef and pork in Germany. *Applied and Environmental Microbiology* **64**, 1825-1830.
- Kovács, Á. (1997) Az élelmiszertudomány alapjai III. Élelmiszerek mikrobiológiája és mikroökológiája. Pécsi Orvostudományi Egyetem Egészségügyi Főiskolai Kar, Pécs, 148.; 199.; 327.
- Körmendy, I. & Körmendy, P. (2007) A kritikus pont helye hővezetéssel melegedő konzervben. Véglapjain hőszigetelt hengeres konzerv. *Élelmészélelmiszeripar* **61**(1), 21-26.
- Labbe, R.G. & Juneja, V.K. (2002) *Clostridium perfringens* In Foodborne Diseases, Cliver D.O. and Riemann H.P. (eds) 2nd Edition. Academic Press, Amsterdam.

- Labbe, R.G. (2001) *Clostridium perfringens*. In: Downs, F.P., Ito, K.(Eds.), Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, American Public Health Association, 325–330.
- Lindström, M., Nevas, M., Hielm, S., Lahteenmäki, L., Peck, M.W. & Korkeala, H. (2003) Thermal inactivation of nonproteolytic *Clostridium botulinum* type E spores in model fish media and in vacuum-packaged hot-smoked vacuum-packaged fish products. *Applied and Environmental Microbiology* **69**, 4029– 4035.
- Locsmándi, L. (2007) A libamáj komplex vizsgálata. Doktori (PhD) értekezés. Kaposvári Egyetem, Állattudományi Kar, Kaposvár, 17; 19.
- Lynch, J.M., Anderson, A., Camacho, F.R., Winters, A.K., Hodges, G.R. & Barnes, W.G. (1980) Pseudobacteremia caused by *Clostridium sordellii*. *Archives of Internal Medicine* **140**, 65-68.
- Mafart, P. & Eguerinel, I. (1998) Modelling combined effects of temperature and pH on heat resistance of spores by a linear-bigelow equation. *Journal of Food Science* **63**(1), 6-8.
- Marcilloux, J.C., Simon, J. & Aufray, P. (1985) Effect of VHM lesions on plasma insulin in the goose. *Physiology & Behavior* **35**(5), 725-728.
- Marquis, R.E., Sim, J. & Shin, S.Y. (1994) Molecular mechanism of resistance to heat and oxidative damage. *Journal of Applied Bacteriology* **76**, 40-48.
- McDonell, G. & Russell, A.D. (1999) Antiseptics and disinfectants: Activity, action and resistance. *Clinical Microbiology Reviews* **12**, 147-179.
- McNamara, A. & Lattuade, C. (1998) Examination of meat and poultry products for *Clostridium perfringens* USDA/FSIS Microbiology Laboratory Guidebook (3rd ed.) (pp. 1-8). Food Safety and Inspection Services (FSIS).

- Mead, G.C., Chamberlain, A.M. & Borland, E.D. (1973) Microbial changes leading to the spoilage of hung pheasants, with special reference to the clostridia. *Journal of Applied Bacteriology* **36**, 270-287.
- Mead, P.S., Slutsker, L., Dietz, V., McCraig, L.F., Bresee, J.S., Shapiro, C., Griffin, P.M. & Tauxe, R.V. (1999) Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Diseases* **5**, 607-625.
- Meador-Parton, J. & Popham, D.L. (2000) Structural analysis of Bacillus subtilis spore peptidoglycan during sporulation. *Journal of Applied Bacteriology* **76**, 105-114.
- Mohácsiné Farkas, Cs. (2007) Élelmiszerekkel terjedő kórokozó baktériumok. A Balla, Cs. & Siró, I (eds) *Élelmiszer-biztonság és -minőség I. Alapismeretek*, Mezőgazda Kiadó, Budapest, 187.
- Morrison, D., Woodford, N. & Cookson, B. (1997) Enterococci as emerging pathogens of humans. *Journal of Applied Microbiology. Symposium Supplement* **83**, 89–99.
- Nakamura, S., Yamakawa, K., Izumi, J., Nakashio, S. & Nishida, S. (1985) Germinability and heat resistance of spores of *Clostridium difficile* strains. *Microbiology and Immunology* **29**(2), 113-18.
- Novak, J.S., Juneja, V.K. & McClane, B.A. (2003) An ultrastructural comparison of spores from various strains of *Clostridium perfringens* and correlations with heat resistance parameters. *International Journal of Food Microbiology* **86**, 239–247.
- Olsen, S.J., MacKinon, C.L., Goulding, J.S., Bean, N.H. & Slutsker, L. (2000) Surveillance for foodborne-disease outbreaks United States, 1993-1997. *Centers for disease control and prevention MMWR* **49**, 1-51.

- Peck, M.W., Fairbairn, D.A. & Lund, B.M. (1993) Heat-resistance of spores of non-proteolytic *Clostridium botulinum* estimated on medium containing lysozyme. *Letters in Applied Microbiology* **16**, 126–131.
- Popoff M.R. (1987) Purification and characterization of *Clostridium sordellii* lethal toxin and cross-reactivity with *Clostridium difficile* cytotoxin. *Infection and Immunity* **55**(1), 35-43.
- Qa'dan, M., Spyres, L.M. & Ballard, J.D. (2001) pH-enhanced cytopathic effect of *Clostridium sordellii* lethal toxin. *Infection and Immunity* **91**, 104-6.
- Rahman, M. (1978) Free sporing *Cl. welcii* in ordinary laboratory media and conditions. *American Journal of Clinical Pathology* **31**, 359-360.
- Reilly, S. (1980) The carbon dioxide requirements of anaerobic bacteria. *Journal of Medical Microbiology* **13**, 573-579.
- Riesenman, P.J. & Nicholson, W.L. (2000) Role of the spore coat layers in *Bacillus subtilis* resistance to hydrogen peroxide, artificial UV-C, UV-B, and solar radiation. *Applied and Environmental Microbiology* **66**, 620-626.
- Rode, L.J., Pope, L., Filip, C. & Smith, L. DS. (1971) Spore appendages and taxonomy of *Clostridium sordellii*. *Journal of Bacteriology* 1384-1389.
- Rodler, I. (2005) Élelmezés- és táplálkozás. Medicina Könyvkiadó, Budapest, 446.
- Rohrs, B. (1994) *Clostridium perfringens*: Not the 24 hour flu. *Center for Food Safety & Applied Nutrition, MMWR* 43 (8)
- Russell, A.D. (1990) Bacterial spores and chemical sporicidal agents. *Clinical Microbiology* **3**, 99-119.
- Sanderson, P.J., Wren, M.W.D. & Baldwin, A.W.F. (1979) Anaerobic organisms in postoperative wounds. *Journal of Clinical Pathology* **32**, 143-147.

- Sarker, M.R., Shivers, R.P., Sparks, S.G., Juneja, V.K. & McClane, B.A. (2000) Comparative experiments to examine the effects of heating on vegetative cells and spores of *Clostridium perfringens* isolates carrying plasmid genes versus chromosomal enterotoxin genes. *Applied and Environmental Microbiology* **66**, 3234–3240.
- Schaeffer, P., Ionesco, H., Ryter, A. & Balassa, G. (1963) La sporulation de *Bacillus subtilis*: étude génétique et physiologique. *Colloques Internationaux du Centre National de la Recherche Scientifique* **124**, 553–563.
- Sheridan, J.J., Buchanan, R.L. & Montwille, T.J. (1996) HACCP: An Integrated Approach to Assuring the Microbiological Safety of Meat and Poultry. Food & Nutrition Press, Trumbull, Conn.
- Skomurski, J.F., Racine, F.M. & Vary, J.C. (1983) Steady-state fluorescence anisotropy changes of 1,6 Diphenyl-1,3,5,-Hexatriene in membranes from *Bacillus megaterium* spores. *Biochimica et Biophysica Acta* **731**, 428-438.
- Smith, L.DS. (1975a) *Clostridium sordellii*. In The pathogenic anaerobic bacteria, 2nd ed. Springfield, IL: Charles C. Thomas Publishing, 291-298.
- Smith, L.DS. (1975b) Inhibition of *Clostridium botulinum* by strains of *Clostridium perfringens* isolated from soil. *Journal of Applied Bacteriology* **30**, 319-323.
- Sneath, P.H.A. (1986) Endospore-forming Gram- positive rods and cocci In Sneath, P.H.A., Mair, N.S. & Holt, J.G. (eds) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd ed.*, Williams & Wilkins. Baltimore, Hong Kong, London, Sydney, 1190.
- Sterne, M. & Warrack, G.H. (1964) The types of *Clostridium perfringens*. *Journal of Pathology & Bacteriology* **88**, 279-283.

- 
- Stevens, D.L. & Bryant, A.E. (2002) The role of clostridial toxin in the pathogenesis of gas gangrene. *Clinical Infectious Diseases* **35**(1), S93-S100.
- Stewart, G.S.A.B., Eaton, M.W., Johnstone, K., Barrett, M.D. & Ellar, D.J. (1980) An investigation of membrane fluidity changes during sporulation and germination of *Bacillus megaterium* KM measured by electron spin and nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta* **600**, 270-290.
- Sveiczner, Á. (1997) Egészségügyi mikrobiológia. Műszaki Egyetem (Kari jegyzet), Budapest, 62-64.
- Szabó I.M. (1996) A bioszféra mikrobiológiája II. Akadémia Kiadó, Budapest, 894-901.
- Tóásó, Sz., Tenk, A. & Látits, M. (2006) A hazai lúdhizlalás és libamájtermelés helyzete és perspektívája. *Gazdálkodás*. 16. Különszám. 70.
- Todd, E.C.D. (1989) Costs of acute bacterial foodborne disease in Canada and the United States. *International Journal of Food Microbiology* **9**, 313-326.
- Tschirdewahn, B., Notermans, S., Wernars, K. & Untermann, F. (1991) The presence of enterotoxigenic *Clostridium perfringens* strains in faeces of various animals. *International Journal of Food Microbiology* **14**, 175-178.
- Turcsán, J. (2005) Minőségbiztosítás a hízott libamáj előállításában, különös tekintettel az élelmiszeripari feldolgozás folyamatára. Doktori (PhD) értekezés. Nyugat-magyarországi Egyetem, Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar, Mosonmagyaróvár, 94.
- Turcsán, J., Varga, L., Turcsán, Zs., Szigeti, J. & Farkas, L. (2001) Occurrence of Anaerobic Bacterial, Clostridial, and *Clostridium perfringens* Spores in

- Raw Goose Livers from a Poultry Processing Plant in Hungary. *Journal of Food Protection* **64**(8), 1252-1254.
- Turtura, G.C. & Lorenzelli, P. (1994) Gram-positive cocci isolated from slaughtered poultry. *Research in Microbiology* **149**, 203-213.
- Uno, J. & Hayakawa, K.I. (1979) Nonsymmetric heat conduction in an infinite slab. *Food technology* **29**(12), 33.
- Uzal, F.A. (2004) Diagnosis of *Clostridium perfringens* intestinal infections in sheep and goats. *Anaerobe* **10**, 135-143
- Varnam, A.H. & Evans, M.G. (1991) Foodborne Pathogens. Wolfe Publishing Ltd, London.
- Waldroup, A.L. (1996) Contamination of raw poultry with pathogens. *World's Poultry Science Journal* **52**, 7-25.
- Walker, R.D., Richardson, D.C., Bryant, M.J. & Draper, C.S. (1983) Anaerobic bacteria associated with osteomyelitis in domestic animals. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **182**, 814-816.
- Watt, B. (1973) The influence of carbon dioxide on the growth of obligate and facultative anaerobes on solid media. *Journal of Medical Microbiology* **6**, 307-314.
- Weenk, G., Fitzmaurice, E. & Mossel, D.A.A. (1990) Selective enumeration of spores of *Clostridium perfringens* in dried foods. *Journal of Applied Bacteriology* **70**, 135-143.
- Willis, A.T. (1969) Clostridia of wound infection. Butterworth and Co., London.
- Wolf, I.D. & Lechowich, R.V. (1989) Current issues in microbiological food safety. *Cereal foods World* **34**, 468-472.
- Zhu, S., Naim, F., Marcotte, M., Ramaswamy, H. & Shao, Y. (2008) High-pressure destruction kinetics of *Clostridium sporogenes* spores in ground



beef at elevated temperatures. *International Journal of Food Microbiology* **126**, 86–92.

**Internetes források:**

url<sup>1</sup>

<http://faostat.fao.org/default.aspx>

url<sup>2</sup>

<http://oktatas.ch.bme.hu/oktatas/konyvek/mezgaz/eumikro/2.doc>).

url<sup>3</sup>

[http://en.wikipedia.org/wiki/Clostridium\\_perfringens](http://en.wikipedia.org/wiki/Clostridium_perfringens)

url<sup>4</sup>

<http://images.google.hu/images?hl=hu&q=Clostridium%20perfringens&um=1&ie=UTF-8&sa=N&tab=wi&biw=1003>

url<sup>5</sup>

<http://oktatas.ch.bme.hu>

url<sup>6</sup>

[http://en.wikipedia.org/wiki/Clostridium\\_sordellii](http://en.wikipedia.org/wiki/Clostridium_sordellii)

url<sup>7</sup>

[http://csuka.mk.uszeged.hu/~hampel/publikacio/egyeb/2009\\_03\\_hokezelesifolyamatszamitogepesmodellezese.pdf](http://csuka.mk.uszeged.hu/~hampel/publikacio/egyeb/2009_03_hokezelesifolyamatszamitogepesmodellezese.pdf)

---

**MELLÉKLET**

A vizsgálatok során alkalmazott tápközegek összetételét mutatom be a **Mellékletben**. A tápközegek rövid elnevezésük alapján betűrendbe szedve követik egymást. Az összetevők g/dm<sup>3</sup> mennyiségre vonatkoznak. Általánosságban elmondható, hogy a tápközegek sterilizése 121°C-on 15 percig történt, ahol eltértünk ezektől a paramétereiktől, ott külön feltüntettem a hőkezelés értékeit.

**Agy-szív tápleves (Brain Heart Agar)**

Tápanyag szubsztrát (agykivonat, szív kivonat és peptonok) 27,5;

D(+)-glükóz 2,0;

Nátrium-klorid 5,0;

Dinátrium-hidrogén-foszfát 2,5;

Sterilizés utáni pH: 7,4 ± 0,2 25°C-on. A tápleves áttetsző és barna, néha opálos.

**BP, Staphylococcus Selective Agar acc. to Baird-Parker**

Kazeinpepton 10,00;

Húskivonat 5,00;

Élesztőkivonat 1,00;

Nátrium-piruvát 10,00;

Glicin 12,00;

Lítium-klorid 5,00;

Agar agar 20,00;

*Adalékanyag:*

Telluritos tojássárgája emulzió (5%-nyi mennyiségben).

**BPLS, Brillantzöld–fenolvörös–laktóz–szacharóz agar**

Pepton húsból 5,0;

Pepton kazeinből 5,0;

Húskivonat 5,0;

Nátrium-klorid 3,0;

Dinátrium-hidrogén-foszfát 2,0;

Laktóz 10,0;

Fenolvörös 0,08;

Brillantzöld 0,0125;

Agar-agar 12,0.

Sterilizés utáni pH: 6,9 ± 0,2 25°C-on. A lemezek áttetszőek és vörösek.

**CATC, Citrate Azide Tween Carbonate**

Pepton kazeinből 15,0;  
Élesztőkivonat 5,0;  
Kálium-dihidrogén-foszfát 5,0;  
Nátrium-citrát 15,0;  
Polioxietylén-szorbitán-monooleát (Tween 80) 1,0;  
Agar-agar 15,0.

*Kiegészítés:*

Nátrium karbonát 2,0; 2,3,5-Trifeniltetrazolium-klorid 0,1; nátrium-azid 0,4.  
Sterilizés utáni pH 7,0 ± 0,2 25°C-on. A táptalaj áttetsző és sárgás színű.

**Columbia Agar**

Speciális tápanyag szubsztrát 23,0  
Keményítő 1,0  
Nátrium-klorid 5,0  
Agar-agar 10,0

Sterilizés utáni pH 7,3 ± 0,2 25°C-on. A táptalaj áttetsző és sárgásbarna színű.  
A hőérzékeny komponenseket a hőkezelés után kell hozzáadni.  
A vér hozzáadása után világos színűek és nem hemolizálnak.

**Fiziológiás sóoldat**

NaCl 8,5;

A decimális hígítási sorhoz kémcsövekbe kiadagolva (9 cm<sup>3</sup>/kémcső).

**Fluorocult ECD Agar**

Pepton kazeinből 20,0;  
Laktóz 5,0;  
Nátrium-klorid 5,0;  
Epesavas sókeverék 1,5;  
Dikálium-hidrogén-foszfát 4,0;  
Kálium-dihidrogén-foszfát 1,5;  
Agar-agar 15,0;  
Tryptofán 1,0;

4-metilumbelliferil-β-D glükoronid 0,07.

Sterilizés utáni pH 7,0 ± 0,2 25°C-on. A táptalaj áttetsző és sárgásbarna színű.

**MKTTn, Muller-Kaufmann Tetrathionate-Novobiocin Broth**

Húskivonat 3,0;  
Kazein pepton 9,6;  
Nátrium-klorid 2,6;  
Kalcium-karbonát 39,7;  
Nátrium-tioszulfát vízmentes 30,5  
Marhaepe 4,75;  
Brillantzöld 0,0096;  
Novobiocin 0,040.

*Kiegészítés:*

Kálium-jodid 5,0; jód 4,0; 20ml vízben oldva.

---

**Negyederősségű Ringer-oldat**

Nátrium-klorid 2,25;  
Kálium-klorid 0,105;  
Kalcium-klorid (vízmentes) 0,06;  
Nátrium-hidrogénkarbonát 0,05.

**PC, Plate Count agar**

Pepton kazeinből 5;  
Élesztőkivonat 2,5;  
D(+)-glükóz 1,0;  
Agar-agar 14,0;

Sterilizés utáni pH 7,0 ± 0,2 25°C-on. A táptalaj áttetsző és sárgás színű.

**Reinforced Clostridial Medium (RCM)**

Húskivonat 10,0;  
Pepton 5,0;  
Élesztőkivonat 3,0;  
D(+)-glükóz 5,0;  
Keményítő 1,0;  
Nátrium-klorid 5,0;  
Nátrium-acetát 3,0;  
L-ciszteinium-klorid 0,5;  
Agar-agar 0,5.

Sterilizés utáni pH: 6,8 ± 0,2 25°C-on. A kémcsövekben a táptalaj áttetsző és sárgás.

**RVS leves, Salmonella Enrichment Broth acc. to Rappaport Vassiliadis**

Pepton szójalisztből 4,5;  
Magnézium-klorid hexahidrát 29,0;  
Nátrium-klorid 8,0;  
Dikálium-hidrogén-foszfát 0,4;  
Káliumdihidrogén-foszfát 0,6;  
Malachitzöld 0,036.

pH: 5,2 ± 0,2 25°C-on. A tápleves áttetsző és sötétkék.

**TSC Agar (Tryptose Sulfito Cycloserine Agar)**

Triptóz 15,0;  
Pepton szójalisztből 5,0;  
Élesztőkivonat 5,0;  
Nátrium-diszulfid 1,0;  
Ammónium-vas(III)-citrát 1,0;  
Agar-agar 15,0.

*Kiegészítés:*

Cikloszerin 0,4; Kanamycin 0,012.

pH: 7,4 ± 0,2 25°C-on.

**XLD, xilóz–lizin-dezoxikolát**

Élesztőkivonat 3,0;

Nátrium-klorid 5,0;

D(+)-xilóz 3,5;

Laktóz 7,5;

Szacharóz 7,5;

L(+)-lizin 5,0;

Nátrium-dezoxikolát 2,5;

Nátrium-tioszulfát 6,8;

Ammónium-vas(III)-citrát 0,8;

Fenolvörös 0,08;

Agar-agar 13,5.

Nem autoklávozható. pH:  $7,4 \pm 0,2$  25°C-on. A lemezek áttetszők és vörös színűek.

## MPN táblázat – Hoskins táblázat

Kulcsszám	Alapérték	Kulcsszám	Alapérték
000	0	300	2.3
100	0.36	310	4.3
110	0.73	311	7.5
111	1.1	320	9.3
200	0.91	321	15
210	1.5	322	21
211	2.0	330	24
220	2.1	331	46
221	2.8	332	110
222	3.5	333	Tovább hígítani!