

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

SZÜCS PETRA

MOSONMAGYARÓVÁR

2015

NYUGAT-MAGYARORSZÁGI EGYETEM
MEZŐGAZDASÁG- ÉS ÉLELMISZERTUDOMÁNYI KAR
ÉLELMISZERTUDOMÁNYI INTÉZET

Wittmann Antal Növény-, Állat- és Élelmiszer- tudományi
Multidiszciplináris Doktori Iskola

Doktori Iskola vezető:

Dr. Neményi Miklós
egyetemi tanár, MTA levelező tagja

Pulay Gábor Élelmiszertudományi Doktori Program

Programvezető:

Dr. habil. Szigeti Jenő CSc
egyetemi tanár

Tudományos vezetők:

Dr. habil. Szigeti Jenő CSc
egyetemi tanár

Dr. Ásványi Balázs PhD
egyetemi docens

ÉLELMISZEREK MIKROBIOLÓGIAI STABILITÁSÁNAK
NÖVELÉSE KÍMÉLETES HŐKEZELÉSSSEL (SOUS-VIDE
TECHNOLÓGIA)

Készítette:

SZÜCS PETRA

Mosonmagyaróvár
2015

ÉLELMISZEREK MIKROBIOLÓGIAI STABILITÁSÁNAK
NÖVELTÉSE KÍMÉLETES HŐKEZELÉSSEL (SOUS-VIDE
TECHNOLÓGIA)

Írta:
SZÜCS PETRA

Készült a Nyugat-Magyarországi Egyetem Mezőgazdaság és
Élelmiszertudományi Kar
Wittmann Antal Növény-, Állat- és Élelmiszer- tudományi
Multidiszciplináris Doktori Iskola,
Pulay Gábor Élelmiszertudományi Doktori Program keretében

Témavezetők: Dr. 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 () igen /nem

(aláírás)

Második bíráló () 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	7
ABSTRACT	8
1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS	9
1.1. Célkitűzés.....	11
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	12
2.1. Az élelmiszerbiztonság és jogszabályi háttere	12
2.1.1. Törvények, rendeletek	13
2.2. Élelmiszerek mikrobiológiai biztonsága	15
2.3. Állati eredetű élelmiszerek mikrobiológiai biztonsága	18
2.3.1. Húsok mikrobiológiai biztonsága	18
2.3.2. Húsok jellemzői	20
2.3.4. Hús alkotó elemeinek átalakulása hőkezelés hatására	21
2.4. A hús higiéniai szempontjából lényeges kórokozói	24
2.4.1. <i>Listeria monocytogenes</i> élelmiszer-higiénia jelentősége	24
2.4.2. <i>Staphylococcus aureus</i> élelmiszer-higiéniai jelentősége	26
2.5. Növényi eredetű élelmiszerek élelmiszer-biztonsági vonatkozásai ..	27
2.5.1. Növényi nyersanyagok romlása.....	28
2.5.2. Romlást okozó élesztőgombák	30
2.5.3. <i>Zygosaccharomyces bailii</i> élelmiszer-higiéniai jelentősége	32
2.6. Az élelmiszerek eltarthatóságának biztosítása hőkezeléssel.....	34
2.7. Hőkezelés, mint kíméletes élelmiszer kezelési eljárás	35
2.7.1. A sous-vide technológia	35
2.7.2. A molekuláris konyha és a sous-vide története.....	36
2.7.3. A sous-vide alaplépései	39
2.8. A sous-vide és az élelmiszer-biztonság	41
2.8.1. Minőségi- és mikrobiológiai biztonsági szempontok	41
2.9. A sous-vide előnyei.....	42
2.10. A sous-vide technológia alkalmazása a gyakorlatban.....	43
2.11. A hús elkészítési módjairól röviden.....	44
3. ANYAG ÉS MÓDSZER	46
3.1. Anyagok	46
3.1.1. Tápközegek.....	46
3.1.2. A vizsgált törzsek rendszertani besorolása	50
3.2. Eszközök	52

3.3. Módszerek.....	53
3.3.1. A <i>Listeria monocytogenes</i> NCAIM B.01373 ^T hőrezisztenciájának vizsgálati módszerei.....	53
3.3.2. A <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 hőrezisztenciájának vizsgálati módszerei.....	56
3.3.3. A <i>Zygosaccharomyces bailii</i> NCAIM Y.00954 ^T élesztő hőrezisztenciájának vizsgálati módszerei	60
3.3.4. Tenyésztési mikrobiológiai vizsgálatok	64
3.3.5. PCR (Polymerase Chain Reaction) vizsgálatok.....	65
3.3.6. A hőpusztulási paraméterek meghatározása	67
3.3.7. A kiértékelésben alkalmazott statisztikai módszerek.....	71
3.3.8. Tárolási kísérletek.....	72
4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK.....	74
4.1. <i>Listeria monocytogenes</i> NCAIM B.01373 ^T hőpusztulása modell közegben.....	74
4.2. <i>Listeria monocytogenes</i> NCAIM B.01373 ^T hőpusztulása hús mátrixban.....	77
4.3. <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 hőpusztulása modell közegben	82
4.4. <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 hőpusztulása hús mátrixban .	85
4.5. <i>Zygosaccharomyces bailii</i> NCAIM Y.00954 ^T hőpusztulása modell közegben.....	90
4.6. <i>Zygosaccharomyces bailii</i> NCAIM Y.00954 ^T hőpusztulása zöldség mátrixban.....	93
4.7. Statisztikai értékelés	98
4.8. Tárolási kísérletek értékelése	99
5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK.....	107
5.1. Következtetések az élelmiszer-biztonság tükrében	107
5.2. Minimális hőntartási idő 6D pusztulás esetén	108
5.3. Az össz DNS mennyiségének változása a hőkezelés során.....	112
5.4. Relatív pusztulási sebesség (RPS) és Relatív pusztulási idő (RPI) változása a sous-vide technológia modellezése során	112
5.5. A k-érték változása a sous-vide technológia modellezése során.....	114
5.6. A z-értékek változása a kezelések során.....	115

5.7. Mikrobiológiai-higiéniai állapot megítélése a tárolási kísérletek alapján.....	117
5.8. A meghatározott paraméterek gyakorlati alkalmazása	121
6. ÖSSZEFOGLALÁS.....	123
7. SUMMARY.....	127
8. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	130
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	132
9. SZAKIRODALOM JEGYZÉKE.....	133
MELLÉKLETEK.....	148

**ÉLELMISZEREK MIKROBIOLÓGIAI STABILITÁSÁNAK
NÖVELÉSE KÍMÉLETES HŐKEZELÉSSSEL (SOUS-VIDE
TECHNOLÓGIA)****KIVONAT**

A világ népességének növekedésével a humán élelmiszer-ellátás, sőt még a takarmányozás is egy sajátos kettősséggel találta magát szemben: egységnyi területről minél több élelmiszer és takarmány alapanyagot (biomasszát) előállítani és feldolgozni úgy, hogy azok a fogyasztó szempontjából kedvező beltartalmi mutatókkal rendelkezzenek. Ennek egyik megvalósítási lehetősége a sous-vide (vákuum alatt) technológia, amelyet a kéméletes hőkezelések közé sorolunk. Kísérleteimben mind vákuumcsomagolásban, mind pedig légköri nyomáson csomagolt (kontroll) és mesterségesen befertőzött tápleveseket és élelmiszer mátrixokat (darált sertéshús és zöldség mix) hőkezelttem ezen kéméletes technológiát modellezve. Ennek során meghatároztam a különböző hőfokokon (50-65 °C) és hőntartási idővel (10-40 perc) végzett hőkezelések *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, valamint *Zygosaccharomyces bailii* fajok pusztulási paramétereire (D-érték, z-érték, relatív pusztulási sebesség és idő, valamint a többségi pusztulási idő) gyakorolt hatását. A sous-vide elvekkel összhangban definiáltam azon minimális hőkezelési paramétereket, amelyekkel a vizsgált fajok száma a 6D elvet figyelembe véve biztonságos szintre csökkenthető, biztosítva ezzel a termékek mikrobiológiai stabilitását. Állításaimat a vizsgált fajok össz DNS-ének változásával, valamint tárolási kísérletekkel is igazoltam.

**INCREASING THE MICROBIOLOGICAL STABILITY OF
FOODS BY MILD HEAT TREATMENT (SOUS-VIDE
TECHNOLOGY)**

ABSTRACT

Due to the world population growth, human food supply and even the feeding faced a peculiar dichotomy: producing and processing the more food and feed material (biomass) per unit area in such a way as to have favorable nutritional indicators to consumers. To accomplish this, there is a great opportunity called sous-vide (French word for 'under vacuum') technology, which is classified as a gentle heat treatment. In our researches, we heat treated artificially preserved media and food matrices (minced pork and vegetable mix) which were packed under vacuum and atmospheric pressure (control) modelling this gentle heat treatment. We determined the effects of heat treatments with different temperatures (50-65 ° C) and holding times (10-40 minutes) on the mortality parameters (D-value, z-value, relative mortality rate, majority mortality time) of species like *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, and *Zygosaccharomyces bailii*. In accordance with the sous vide principles, we defined the minimum heat treatment parameters with which the number of the test species, considering the 6D principle, can be reduced to a safe level. This ensures the microbiological stability of the products. Our statements have been proved by the DNA changes of the examined species and by storage experiments.

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS

Az élelmiszerlánc szereplői közül a tartósítóipar napjainkig különös jelentőséggel bír. Mióta az urbanizáció következtében a termelés, feldolgozás és a fogyasztás időben és térben egyaránt elkülönül, egyetlen élelmiszer-előállítási folyamat sem képzelhető el nélküle.

A világ népességének növekedésével a humán élelmiszer-ellátás, sőt még a takarmányozás is egy sajátos kettősséggel találta magát szemben: egységnyi területről minél több élelmiszer és takarmány alapanyagot (biomasszát) előállítani és feldolgozni, úgy hogy azok a fogyasztó szempontjából kedvező beltartalmi mutatókkal rendelkezzenek. Az előbbi törekvés érhető utol a GMO megjelenésében, amely egyben a feldolgozási kapacitások bővülését is megköveteli. A klasszikus nagyipari tartósító technológiák nagy mennyiségű, és a technológia szempontjából változatos élelmiszer alap-, adalék- és segédanyag költséghatékony kezelését végzik, amely feltételezi az élelmiszermátrixba való gyors és drasztikus beavatkozást. Az ilyen feldolgozási technológiák - szemben a „kíméletes technológiákkal” - az élelmiszer beltartalmi paramétereire általában kedvezőtlenül hatnak. A tömegtermelésen túl egyrészt – mondjuk ki őszintén - a divatirányzatok, másrészt az egészségtudatosabb táplálkozás következtében az élelmiszer garanciális minőségén túl előtérbe került a fogyasztók elvárt (funkcionális) igényeinek kielégítése is. A feldolgozási és tartósítási technológiák elmozdulása ebbe az irányba napjainkig tart. Azt már mi is tudjuk nagyszüleinktől, hogy a jó ételek elkészítésének titka a lassú, takaréklángon történő sütés-főzés. Ez nem újkori találmány, már

évszázadokkal ezelőtt különböző népcsoportok világszerte, egymástól függetlenül eredményesen használták. (URL¹)

Nemcsak tapasztalatból, de Leistner óta egzakt módon kifejezve is tudjuk, hogy az élelmiszerre ható, önmagukban enyhe behatások összességében tartós élelmiszert eredményeznek (Leistner és Gorris, 1995).

A gát elv e sajátos alkalmazását valósítja meg a kombinált tartósítások közé sorolható sous-vide technológia, amely az élelmiszer mátrixra – sőt a mátrixban – ható biotikus és abiotikus tényezőket úgy befolyásolja, hogy azok a folyamat végére egy tartós terméket eredményeznek, amely beltartalmi és organoleptikus tulajdonságait tekintve is szignifikánsan jobbak az üzemi/ nagyüzemi feldolgozású hasonló termékeknél. A sous-vide alapja és lényege, hogy minden alapanyagot és terméket a saját összetevőinek függvényében hőkezelnek, figyelembe véve annak biológiai és kémiai tulajdonságait. Függően a nyersanyagok összetételétől - legyen az marhahús, hal, vagy zöldség - mindent külön hőmérsékleten kezelnek, ezáltal az optimális eredmény elérése lényegesen kevesebb sejtszerkezeti roncsolással valósítható meg. Nem egy konyhaművészeti megoldásról van tehát elsősorban szó, hanem tudományról. A sous-vide technológia sikeressége nagyon sok tényező függvénye: állat kora, hús összetétele, sejtszerkezete, a hőkezelés célja, direkt, vagy indirekt a főzési metódus, pasztörözés a cél, vagy az azonnali fogyasztás, resz állag, vagy a teljes puhulás. Ezen diverzitás az oka annak, hogy a sous-vide, mint kíméletes hőkezelési technológia a termék minősége szempontjából nem feltétlenül jelent biztonságot a romlást okozó mikroorganizmusok elpusztítását illetően. Az élelmiszer-

biztonság szempontjából szükséges tehát meghatározni és kimérni az egyes alapanyag mátrixok összetételétől, és mikrobiális terheltségétől függően a pusztulási paramétereket, növelve ezzel az élelmiszerbiztonságot.

1.1. Célkitűzés

Munkám célja az volt, hogy megvizsgáljam a sous-vide termékekben is előforduló *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, valamint a *Zygosaccharomyces bailii* esetében a vákuumcsomagolás és a cirkulációs hőntartóban végzett hőkezelés pusztulási kinetikára - elsősorban a z-értékre, a D-értékre, a Q10 értékre, valamint a relatív pusztulási sebességre és időre - gyakorolt hatását. További célkitűzésem volt, hogy a sous-vide elvekkel összhangban meghatározzam azon minimális hőkezelési paramétereket, amelyekkel ezen fajok száma a biztonságos szintre csökkenthető.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Az élelmiszerbiztonság és jogszabályi háttere

Az emberiség története óta léteznek problémák az élelmiszerekkel, amelyeket nap mint nap elfogyasztunk. Az élelmiszer-biztonság története azonban csak rövidebb múltra tekint vissza, ezzel kapcsolatos ismereteink megszerzése pedig az 1600-as évek elején kezdődött a tudományos felfedezésekre alapozva. A mikrobiológia, és ezen belül az élelmiszer-mikrobiológia kialakulása adott lehetőséget a mikrobák pontos meghatározására, a gyors diagnosztika kifejlesztésére, és az élelmiszerek mikrobiológiai minősítésére (Rodler, 2006).

Az utóbbi ötven évben élelmiszerellátásunk, élelmiszerfogyasztásunk többet változott, mint előtte évezredek alatt. A változások az utóbbi évtizedekben, években még inkább felgyorsultak. A nagy létszámú, és egyre igényesebb népesség elegendő élelmiszerral történő ellátására az élelmiszereket, és azok alapanyagait tömegtermeléssel állítják elő, mely élelmiszerek aztán a globalizáció, az áruk szabad áramlása, és a fejlett szállítmányozás segítségével rövid idő alatt bárhova eljuthatnak, velük együtt a kórokozók és toxikus anyagok is (Szeitzné, 2008).

Napjainkban a nyersanyag-feldolgozás, az élelmiszer-előállítás és forgalmazás során legfontosabb szempont a megfelelő minőségű, és egyben biztonságos élelmiszerek előállítása a fogyasztó egészségének védelme érdekében. Ennek megvalósításához azonban nélkülözhetetlen a mikrobiológiai kockázat csökkentése és kiküszöbölése. A nyers, valamint a természetes biológiai eljárásokkal készített élelmiszerekben előforduló

kórokozó, illetve romlást okozó mikroorganizmusok kimutatására, jellemzésére, azonosítására nagy hangsúlyt fektetnek a megfelelő minőségű és biztonságos élelmiszerek iránt tapasztalható növekvő igények miatt (Blackburn, 2003; Deák et al. 2006).

Az élelmiszeripar új technológiai mikrobiológiai és kémiai veszélyeket hordoznak. A hagyományos tartósítási technológiák adalékanyagokat (tartósítószerket) vagy magas hőmérsékletet alkalmaztak és nagy biztonsággal pusztítottak el minden csírát a termékben.

Az új „kíméletes” technológiák, mint például a sous-vide technológia, nagy hidrosztatikus nyomás, elektromos impulzusok, kerülnek az adalékanyagok, tartósítószer használata, magas hőmérsékleten végzett hőkezelést, erős sózást és cukrozást. Így igyekeznek megtartani az élelmiszerek tápanyagtartalmát, és természetes érzékszervi jellemzőit.

Ezen az elvárások nehezen egyeztethetők össze a termék mikrobiológiai biztonságával, mivel egyes ellenálló kórokozók túlélhetik a kíméletes feldolgozási módszereket, és lehetővé teszi a polirezisztens fajok elszaporodását. Így ezek a termékek szigorú hőkezelési, hűtési, tárolási feltételekkel járnak (Szabó és Rodler, 2001).

Az élelmiszer-biztonság tehát annak biztosítása a termelés, az élelmiszer-előállítás, a tárolás és a forgalomba hozatal teljes folyamatában, hogy az élelmiszer nem veszélyezteti a végső fogyasztó egészségét, ha azt a rendeltetési célnak megfelelően készíti el és fogyasztja (2003. évi LXXXII. törvény).

2.1.1. Törvények, rendeletek

Az élelmiszer-fogyasztással kapcsolatos veszélyek kiküszöbölésére az országok szabályokat alkottak, hogy védelmet nyújtsanak a

megbetegedésekkel szemben. Magyarország 2004. május 1-től tagja lett az Európai Uniónak, így ezzel egyidejűleg a jogi szabályozás is megváltozott. A csatlakozás feltétele volt a teljes jogszabályi harmonizáció. Jelenlegi jogszabályaink az uniós jogszabályokkal lényegileg azonosnak tekinthetők, és folyamatosan követik az Unióban jelenleg is zajló intenzív jogalkotási folyamatot. Az elsődleges termelést leszámítva, kötelezővé vált a HACCP rendszer alkalmazása a takarmány- és élelmiszervállalkozások teljes körében, beleértve a kereskedelmet és a vendéglátást is.

Hazánkban, hasonlóan az Európai Unió többi országához, az élelmiszerjogi szabályozás szigorú, az ellenőrzés rendszeres. A hazai és az európai uniós élelmiszerek az időnkénti botrányos esetek ellenére a világon a legbiztonságosabbak közé tartoznak. A veszélyeztetettség azonban folyamatosan jelen van, és az új kihívásokra fel kell készülni. A felkészülés a hatékony hazai és nemzetközi együttműködés erősítésével, a tudományos kockázatbecslés eredményeinek felhasználásával lehetséges.

Az élelmiszerek biztonságos fogyaszthatósága érdekében megfelelő szabályok és követelmények megalkotása vált szükségessé. Az Európai Parlament és a Tanács 178/2002/EK rendelete az élelmiszerjog általános elveiről és követelményeiről, az Európai Élelmiszer-biztonsági Hivatal létrehozásáról, és az élelmiszer-biztonságra vonatkozó eljárások megállapításáról szól.

A nemzeti jogszabályok közül az élelmiszerekről szóló hatályos törvény a 2003. évi LXXXII. törvény, amelynek egyes rendelkezéseit módosította a 2005. évi CLIX. törvény. Az élelmiszerlánc szabályozásában

megalkotott 2008. évi XLVI. törvény célja a végső fogyasztók egészségének, érdekeinek védelme; az állatok egészségének megóvása, a növények védelme; az élelmiszer előállítás és értékesítés elősegítése; az élelmiszer- és takarmányvállalkozók érdekeinek védelme; valamint a kockázati tényezők csökkentése, és a nemzetközi kereskedelem biztosítása.

Az élelmiszerek mikrobiológiai kritériumait foglalja össze a Bizottság 2073/2005/EK rendelete. A rendelet mikrobiológiai kritériumokat állít fel egyes mikroorganizmusokra, és meghatározza azokat a végrehajtási szabályokat, amelyeket az általános és konkrét higiéniai intézkedések végrehajtásakor követni szükséges, biztosítva a fogyasztók egészségének, érdekeinek, valamint a piaci verseny tisztaságának védelmét. Az élelmiszer-mikrobiológiai vizsgálatok végzésének alapvető feltételeit és fogalmait a 4/1998. (XI. 11.) című EüM rendelet határozza meg. Ezen rendelet szerint kell mikrobiológiai élelmiszer-biztonság szempontjából vizsgálni és elbírálni az:

- élelmiszer (alapanyag, félkész- és késztermék),
- termelési és technológiai eszközök (munkafelületek, csomagolóanyagok),
- az élelmiszerrel kapcsolatos tevékenységet végző személy tisztaságát.

2.2. Élelmiszerek mikrobiológiai biztonsága

Az élelmiszer eredetű megbetegedések világszerte jelentős, és egyre növekvő problémát jelentenek, melyek előidézésében a patogén mikroorganizmusok között kell megemlíteni az élelmiszer-fertőzést vagy

élelmiszermérgezést okozó baktériumokat, a mikotoxint termelő fonalas gombákat, valamint az élelmiszer eredetű parazitákat (Mogensen és Holm, 2003; Knura et al. 2006). A WHO (World Health Organization) a fejlett ipari országok vonatkozásában évente 10-30%-ra becsüli az élelmiszer eredetű megbetegedések számát (WHO, 2007).

Az élelmiszereredetű megbetegedések kialakulásába érintett élelmiszerek közül legnagyobb arányban 40%-ban a tojás és tojástartalmú étel szerepe mutatható ki. Hús- és hústermékek 15%-ban, több összetevőből álló ételek 10%-ban, tej-és tejtermékek 8%-ban, hal és kagylófélék 5 %-ban, zöldségfélék 4%-ban (Rodler, 2007).

A mikrobiológiai élelmiszerbiztonság helyzetének megítélésére az élelmiszer eredetű megbetegedések, valamint az élelmiszerláncban észlelt mikrobiológiai szennyeződések alakulása ad információt. Minden vizsgálat és elemzés azt mutatja, hogy napjainkban az élelmiszerbiztonsági helyzetet a zoonotikus (állatról emberre terjedni képes) kórokozók és az általuk okozott megbetegedések határozzák meg. Ezek a kórokozók az élő állatokba bekerülve azok fertőzését okozzák, és elsődleges szennyeződésként bekerülhetnek az élelmiszerláncba (Szabó, 2000).

Az elmúlt években az élelmiszer-előállítás globalizálódása, a higiéniai szabályok be nem tartása, a nem megfelelő hőkezelés vagy hűtés, illetve egyéb technológiai, és más tényezőre visszavezethető okokból kifolyólag az élelmiszer eredetű megbetegedések gyakorisága növekvő tendenciát mutat.

Az élelmiszerek fogyasztásához kapcsolódó kockázat elsősorban a mikrobiológiai ágensek következtében kialakuló fertőzések és

mérgezések formájában jelentkezik. Jelenleg már több mint kétszáz mikrobáról bizonyították, hogy képes élelmiszer közvetítésével megbetegedést okozni, és ez a szám folyamatosan nő (WHO, 1998). Sokukra a rutin élelmiszeranalitika során nem végeznek vizsgálatot, vagy csak gyanú esetén vizsgálnak, egy részüket pedig csak nagyon speciális laboratóriumi vizsgálattal lehet kimutatni (WHO, 2002).

Élelmiszer eredetű megbetegedések széles körben elterjedtek, és okoznak növekvő közegészségügyi problémát mind a fejlett, mind a fejlődő országokban. Az élelmiszer eredetű egészségkárosodást előidéző fertőző vagy mérgező anyagok 5 fő csoportba sorolhatók:

- mikrobiológiai ágensek,
- kémiai szennyezők,
- fizikai szennyeződést okozó anyagok,
- radioaktív szennyezők,
- új technológiai, biotechnológiai eredetű kockázati tényezők.

Témakörömhöz illeszkedve, ezek közül az élelmiszerek mikrobiológiai biztonságát tekintem át.

2.3. Állati eredetű élelmiszerek mikrobiológiai biztonsága

2.3.1. Húsok mikrobiológiai biztonsága

A mikrobiológiai élelmiszer-biztonság szempontjából a veszélyforrások közül elsősorban azokat kell figyelembe venni a technológiai folyamatok során, amelyek élelmiszer-mérgezést, vagy fertőzést okoznak. Az állati eredetű élelmiszerek esetében a nyersanyagként szolgáló vágóállatok az elsődleges mikrobiológiai veszélyforrások, így a vágási technológiában a higiéniai feltételek megvalósítása nélkülözhetetlen, míg a termékgyártás folyamatában alapvető jelentőségű az előírt hőmérsékleti értékek biztosítása (Biró, 2000).

A bakteriológiai élelmiszer-biztonságot veszélyeztető kórokozók tekintetében a leggyakoribb az állati eredetű élelmiszerek okozta zoonózisok kockázata, a keresztszennyeződések, a patogének átjutása a szennyezett nyers élelmiszerről más élelmiszerekre. E lehetőségek révén azonban az élelmiszerek szélesebb körében is szerepet játszhatnak az állati eredetű élelmiszereket szennyező kórokozók (Szeitzné, 2008).

Az eltarthatóság növelése, és a megfelelő biztonság kialakítása érdekében a húsok tartósítása során leggyakrabban a hűtést és fagyasztást, a hőkezelést (beleértve a konzerválást), az érlelést és szárítást alkalmazzák, azonban a megfelelő cél elérése érdekében ezeket a kezeléseket gyakran kombinálva használják (Roberts et al. 1998).

Az élelmiszereket általánosságban biztonságosnak tekintjük, feltételezve, hogy megfelelő gondossággal állították elő, készítették el, tárolták és kezelték (Constable et al. 2007). Az élelmiszerek alapanyagául szolgáló állatok egészségi állapota többféleképpen befolyásolhatja a patogénnel való fertőződést. A beteg, vagy

tünetmentes fertőzött állattal való közvetlen kontaktus, az állat gondozása, húsának illetve termékeinek feldolgozása jelentősen hozzájárul a kórokozók terjedéséhez (Singer et al. 2007).

Alapvető követelmény, hogy a mikrobiológiai szennyezettségük minél kisebb legyen. A nagy kezdeti csíraszám esetén a mikrobák szaporodása már az exponenciális szakaszban van, ahol szaporodási sebességük a legnagyobb, így rövid időn belül eléri a kritikus mikrobaszámot, ami romlást idézhet elő. Kis kezdeti csíraszámnál ez jóval később következik be, mivel a lappangási fázis, ahol a mikrobák intenzív felkészülése történik az exponenciális szaporodáshoz, hossza megnyúlik, a csíraszám a kritikus értéket később éri el, s így az eltarthatósági idő hosszabb lesz (Deák et al. 2006).

A feltételesen patogén mikrobákkal szennyezett állati eredetű élelmiszerek elfogyasztása sok ember megbetegedését okozhatja, így a vöröshúsokban, a baromfihúsban és a tojást tartalmazó termékekben ezen mikroorganizmusok jelenlétének vizsgálata lényeges az élelmiszerek biztonságos fogyasztásának érdekében.

A darabolt hús felületén kezdetben az összes baktériumszám 10^3 - 10^5 lehet egy cm^2 -en. Ez összefügg azzal is, hogy a kések, eszközök, vágóasztalok is szennyezettek lehetnek, amelyek a helytelen higiéniai feltételek és a gyakorlatok következményei. Ezért a technológiai műveletek során maximálisan ügyelni kell a közegészségügyi, állat-egészségügyi előírások betartására. Vágás után a nyers húst rögtön le kell hűteni, mert különben gyorsan megindul a baktériumos romlás. A hűtött termékek szempontjából az egyik legfontosabb tényező a hőmérséklet.

Alacsony hőmérsékleten a mikroorganizmusok anyagcseréje lelassul (Thumel, 1995).

2.3.2. Húsok jellemzői

A hús az emberi szervezet fejlődéséhez, működéséhez szükséges tápanyagok „jelentősebb részét” megfelelő mennyiségben és arányban tartalmazza.

A hús fő alkotóelemei közül: 75%-a víz, 20%-a fehérje, 3%-a zsír, 2%-a oldott állapotban lévő összetevő. Ez utóbbi 2%-ból a fémionok és vitaminok 3%-ot, nem fehérje, de nitrogén tartalmú összetevők 45%-ot, a szénhidrátok 34%-ot, és az egyéb szervesen összetevők 18%-ot tesznek ki. (Deák et al. 1980, Csiszár, 1964)

A húsban lévő fehérjék osztályozása, elhelyezkedés és oldhatóság szerint lehetnek:

miofibrilláris, csak magas sókoncentrációjú oldatban oldhatók, és a fehérjék össztömegének 50-55%-át teszik ki,

kötőszöveti (kollagén, elasztin, retikulin, pedig vízben vagy sóoldatban oldhatatlanok., fehérjék össztömegének 10-15%-a),

szarkoplazmában, sejtfalakban található fehérjék vízben és gyengébb sóoldatban oldódnak (Tornberg, 2005).

A legnagyobb tömegben jelenlévő kötőszöveti fehérje a kollagén, mely az összes állati fehérje harmada. Az állat korának előrehaladtával a kollagén relatív mennyisége csökken, ugyanakkor a visszamaradt rész vízoldhatósága is, ami a megnövekedett számú, jó hőtűréssel bíró molekulák közötti kereszt-kötések kialakulásának tudható be (Shimokomaki et al. 1972).

A hús élvezeti értékét jelentősen befolyásolja a zsírszövet márványozottsága. A zsírszövet az izomszövetbe és a kötőszövetbe ágyazva megszakítja azoknak folytonos szerkezetét, így növeli a hús porhanyósságát. A zsírszövetben az aroma kialakításáért felelős molekulák is találhatóak. Sütéskor a zsír megolvad és ily módon „síkosítja” a szövetet, elősegítve a rostok szétválását (McGee, 2004).

2.3.4. Hús alkotó elemeinek átalakulása hőkezelés hatására

A hús hőkezelése biztonságosabb élelmiszert eredményez, melyet könnyebb elfogyasztani, megrágni és megemészteni, hiszen a már denaturálódott fehérjéket könnyebben dolgozzák fel emésztő enzimeink. Nembeszélve arról, hogy a végtermék íze jelentősen javítható a hőkezelés által. A nyers hús bővelkedik ásványokban, fehérjékben, melyek jellegzetes ízérzetet keltenek az ízlelőbimbók stimulálása révén, azonban az illékony molekulák, melyek az aroma kialakításában játszanak szerepet kis koncentrációban vannak jelen.

A hőmérséklet emelkedésével a hús belsejéből a kötetlen állapotban lévő vizes oldat a kapillárisokon keresztül a hús felszíne felé áramlik, ezen fizikai állapotváltozással párhuzamosan kémiai átalakulás is történik, melynek során a sejtalkotók bomlástermékei egymással reakcióba lépnek, és az aroma kialakításáért felelős észterek, ketonok és aldehidek keletkeznek. Ha a hőmérséklet mindvégig a víz forráspontja alatt marad, a végtermék ízének jellegét a fehérjék és zsírok bomlástermékei határozzák meg. A hús ízleléskor keletkezett érzetet befolyásolja az íz és aroma kialakításáért felelős molekulákon kívül a hús szerkezete,

textúrája, a folyékony és a szilárd összetevők aránya, a szerkezeti fehérjék állapota. (This, 2006).

Hő hatására a húspanban lévő fehérjék denaturálódnak. Felbomlanak a fehérjék másodlagos és harmadlagos szerkezetét stabilizáló H-híd, diszulfidhíd, ionos, Van der Waals kötések, gyengülnek a hidrofób kölcsönhatások (Stefanovitsné et al. 2004). A sejtfalokban, a szarkoplazmában oldott állapotban jelenlévő fehérjék a hőmérséklet 40-60 °C fokozatára emelkedésével közelebb kerülnek egymáshoz, kötést létesítenek egymással, vízzoldhatóságuk így csökken. Ez befolyásolhatja a hőkezelt termékek állagát, mert az aggregált fehérjék képezte gél összekötő elemet alkot a húspan többi szerkezeti eleme között (Davey és Gilbert, 1974). A sejtfalokban található fehérjék egy részének, a kollegenáz enzimek aktivitásának fokozódása figyelhető meg a hőmérséklet emelkedésével. Kísérleti eredmények igazolják, hogy a hosszú ideig tartó alacsony hőkezelés hőmérsékleten a maghőmérséklet mérsékelt ütemű emelésével ($dT=0,1$ °C/perc, 60 °C fokig) fokozza a kollegenáz enzimek aktivitását, amíg 70-80 °C-on ezen enzimek inaktiválódtak. A vágóerő szignifikánsan megkülönböztethető 6 órás hőkezelés után, míg a tömegvesztés 25-30% között mozgott (Laakkonen et al. 1970). Melegítés hatására a miofibrilláris fehérjék keresztirányban összezsugorodnak, és hosszanti irányban összehúzódnak. A hélix szerkezet felbomlása már 30 °C-on elkezdődik, és 70 °C-on éri el maximális mértékét (Morita és Yasui, 1991). A hőmérséklet emelkedés hatására a húspanban bekövetkező változásokat az *1. táblázatban* foglaltam össze.

1. táblázat: A hús fehérjeszerkezetében bekövetkezett változás különböző hőkezelési értékek hatására

<i>Hőmérséklet</i>	<i>Változás a hús fehérje szerkezetében</i>
<i>35-40 °C között</i>	Az izomrostok alakváltozása (zsugorodása, majd összehúzódása) megindul, melynek mértéke lineárisan változik a hőmérséklet emelkedésével egészen 80 °C-ig (McGee, 2004).
	Katepszin, kalpain enzimek aktivitásának fokozódása miatt a fehérjebontó enzimaktivitás porhanyósságot eredményez (Tornberg, 2005).
<i>40 °C-tól</i>	A szarkoplazmatikus fehérjék kicsapódása és gélképződés folyamata a hőmérséklet emelkedésével arányosan 60 °C-ig (Tornberg, 2005). A miofibrilláris fehérjék 40-60 °C között keresztirányban összezsugorodnak, növelve az izomrostok közötti teret.
<i>50 °C-tól</i>	A miozin denaturációja elkezdődik, ami szilárdítja a sejteket, keménységet kölcsönöz a húsnak (McGee, 2004).
<i>53-63 °C között</i>	A kollagén denaturálódik (Martens et al., 1982).
<i>60 °C-on</i>	A kollegináz enzim inaktiválódik (Tornberg, 2005).
<i>60-65 °C között</i>	A miofibrilláris fehérjék hosszanti összehúzódása további vízvesztést eredményez (McGee, 2004).
<i>63 °C-on</i>	A kollagén hosszanti irányban összehúzódik, intenzívebb összehúzódás 65 °C felett tapasztalható (McGee, 2004)

2.4. A hús higiéniai szempontjából lényeges kórokozói

2.4.1. *Listeria monocytogenes* ételmiszer-higiénia jelentősége

A listeriák rövid, pálcika alakú, spórát nem képző, peritrich csillós, fakultatív anaerob, Gram-pozitív baktériumok. (Seeliger és Jones, 1986). Motilis baktérium, fénymikroszkóp alatt vizsgálva jellegzetes bukdácsoló mozgást mutat. Bár szobahőmérsékleten (20-25 °C) aktív mozgásra képes peritrich, a sejt teljes felületén eloszló ostoraival, testhőmérsékleten (37 °C) nem szintetizál ostorokat. A nemzetségbe 10 faj tartozik, 2 patogén, a *Listeria monocytogenes* és *L. ivanovii*, valamint nyolc nem patogén faj: *L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri*, *L. grayi*, *L. marthii*, *L. rocourtiae*, *L. fleischmannii*, és *L. weihenstephanensis* (Mraheil et al. 2013). A fajok közül a *Listeria monocytogenes*nek van kórtani szempontból jelentősége, mely emberekben és állatokban is súlyos megbetegedést okoz (Pesavento et al. 2010).

A *Listeria monocytogenes*-t az állati megbetegedés kórokozójaként Murray már 1926-ban leírta. Miután a fertőzés egyik jellegzetes tünete a monocytosis, első neve *Bacterium monocytogenes* volt, melyet később a neves tudós, Lister tiszteletére *Listerella monocytogenes*nek nevezték el. Ubikviter patogén, amely rezisztens számos szélsőséges környezeti tényezővel szemben, úgy mint a kis pH vagy a nagy sókoncentráció. Így jellemzői közé tartozik, hogy 1 és 45 °C között szaporodik. Hőmérsékleti optimuma 30 és 37 °C körüli hőmérsékleten van (Seeliger és Jones, 1986). 60 °C felett gyorsan elpusztul, tizedelési ideje 60 °C-on (D₆₀): 2,85 perc (USDA, FSIS 1990). Viszont 5 °C alatt képes lassú szaporodásra (generációs ideje 13-130 óra). A pH változást viszonylag széles határok közt elviseli, pH 4,3 alatt és 9,6 felett azonban már nem

képes szaporodni (Ralovich és Kovács, 1992). A *Listeria* 10% konyhasó jelenlétében általában még szaporodik (Ralovich és Kovács, 1992). A fagyasztás, illetve a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os tárolás, valamint az ismételt fagyasztás is csekély hatást gyakorol a *Listeria monocytogenes*-re. Ezek a behatások inkább csak a sejtek szubletális sérülését okozzák (Rocourt és Cossart, 1997).

Az élelmiszerek széles köréből már kimutatták. Megtalálható feldolgozatlan állati eredetű élelmiszerekben, nyers tejben, húsban, halban, zöldségeken, gyümölcsökön (Comi et al. 1992; Casolari et al. 1994; Beckers et al. 1987; Dalton et al. 1997; Greenwood et al. 1991; Guyer és Jemmi, 1991; del Rosario et al. 1995).

De kimutatható feldolgozott és fogyasztásra kész élelmiszerekben, csakúgy, mint sajtokban, jégkrémekben, húskészítményekben az utószennyeződés következményeként (Norrung et al. 1999, Guerra et al. 2001), valamint hűtőhőmérsékleten tárolt nyers élelmiszerekben melyek a fertőződés forrásai is egyben (Filioussis et al., 2009).

A baktérium az élelmiszerekbe többféle módon bekerülhet (Weis és Seeliger, 1975). Így a *Listeria* az élelmiszeripari üzemekbe magával a feldolgozandó növényi alapanyagokkal vagy a vágóállatokkal kerülhet be. Az élelmiszerekben a *Listeria monocytogenes* többnyire alacsony csíraszámban fordul elő, de a csíraszám a tárolás során még alacsony hőmérsékleten is emelkedik. (FAO/WHO, 2000).

Kizárólag egy fajnak, a *Listeria monocytogenes*-nek van közegészségügyi szempontból jelentősége. A virulens törzsei által okozott humán megbetegedés, a liszteriózis (Ryser és Marth, 1991).

Az infektív dózis nagysága 10^3 CFU/cm³ (Schmid-Hempel és Frank, 2007). Klinikai megbetegedés főként gyerekekben, idősekben, csökkent ellenállóképességű személyekben és terhes nőkben alakulhat ki. Terhes nők esetében 10-12-szer nagyobb a fertőzés kockázata az átlagosnál. A tünetek a fertőzött élelmiszer elfogyasztása után átlagosan 10-18 nap múlva alakulnak ki. A *L. monocytogenes* által előidézett megbetegedést extraintestinális tünetek kísérik, enyhébb esetben influenzaszerű állapot, súlyosabb esetben meningitis, meningoencephalitis, endocarditis (Zhou és Jiao, 2006).

2.4.2. *Staphylococcus aureus* élelmiszer-higiéniai jelentősége

A vizsgálataim tárgyául választott *Staphylococcus aureus* gram-pozitív baktériumot 1874-ben Billroth mutatta ki, és Pasteur tenyésztette ki először emberi seb gennyéből. Fakultatív anaerob, mezofil baktérium, amely a legrezisztensebb nem spórás fajok közé tartozik, így a kiszáradást jól tűri. Véres agaron β -típusú haemolizist okoz, koaguláz pozitív, a szénhidrátok közül a dextrózt és a mannitot aerob és anaerob módon is bontja (Ryan és Ray, 2004). Hőmérséklet optimuma 37 °C, de növekedést mutat 6,5 és 50 °C hőmérsékleti tartományok között (Halpin-Dohnalek és Marth, 1989). A szaporodásához optimális pH tartomány 6-7, de enyhén savas (pH=4-ig) közegben valamint 0,83-0,86 vízkiváltsági értékek mellett még képes élettevékenységet folytatni (Bergdoll, 1989; Sperber, 1983). A *Staphylococcus aureus*nak szokatlanul nagy a sótűrése, akár 20% NaCl-tartalmat is elvisel. Hő hatására a vegetatív sejtek egy nagyságrendnyi csökkenése 60 °C-on 5,2- 7,8 perc alatt zajlik le (Angelotti et al. 1961).

A *Staphylococcus aureus* nyers húsokban és feldolgozáson keresztülment félkész ételekben, kész ételekben egyaránt veszélyt okoz. Olyan húsok, amelyek erőteljesebb kezelést, előkészítést igényelnének, vagy amelyeket enyhén magasabb hőmérsékleten tartanak az elkészítés után, ételmérgezést, toxikoinfekciót okozhatnak. (Nagymajtényi, 2001). Élelmiszerekbe kerülve elszaporodhat, és megfelelő körülmények között toxinokat termel (A, B, C1, C2, C3, D, E), köztük hőstabil enterotoxint is, amely 100 °C-on egy óra elteltével is aktív marad. Az ételmérgezést kiváltó toxintermeléshez több mint 10^6 sejt/g szükséges. A toxintermeléshez optimális (35-40 °C), vagy az alatti hőmérséklet (Halpin-Donhalek és Marth, 1989; Adams és Moss, 1995) megfelelő pH (5,15 – 9,0) (Schreusner, et al., 1973), és minimum 0,86 vízáktivítási érték (Tatini, 1973) szükséges. A toxin megsemmisítése tejben 98,9 °C-on 2 óra 14,2 perces hőkezelés hatására következik (Read és Bradshaw, 1966).

A *Staphylococcus* intoxicatio a világon a leggyakrabban előforduló ételmérgezés. Ez annak ellenére így van, hogy minden lehető megtesznek a visszaszorítására. Európában és Magyarországon az esetszámot tekintve a második helyen áll a salmonellosis után (Bíró, 2014).

2.5. Növényi eredetű élelmiszerek élelmiszer-biztonsági vonatkozásai

Az utóbbi évtizedekben világszerte gyors ütemű szerkezetváltozás tapasztalható az élelmiszerek fogyasztásában. Mind tömegében, mind arányában növekszik a vitaminban gazdag élelmiszerek fogyasztása,

nagyrészt a nagy energiatartalmú cereáliák, zsiradékok rovására (Dombray és Bányai, 1982). Nagy élvezeti értékük, íz- és zamat anyagaik révén teszik étkezésünket változatossá. A beltartalmi értékei közül a C-vitamin tartalom, a karotintartalom és antioxidáns tartalom a mérvadó. Emellett kis mennyiségben jelen lévő ásványi anyag (kalcium, foszfor, kálium, magnézium) tartalom is jelentős, mivel ezen ásványi elemek befolyásolják a tárolhatóságot is.

Élelmiszer-biztonsági szempontból különösen jelentős tényező, hogy a termőföld, vagy közvetlenül a növények állati trágyával való kezelése veszélyes mikrobiológiai fertőzési forrás; a szalmonellák és számos más kórokozó baktérium kerül ily módon a talajba, ahol hosszú ideig túlélnek, és a termékre kerülhetnek.

A növényi nyersanyagok elsődleges mikrobiotája elsősorban a talajból, vízből, levegőből, csapadékból, rovaroktól és állatoktól származik. A leveleken és más felszíni részeken a mikrobaszám 10^3 – 10^6 tke/cm². Ezek aerob, Gram-negatív baktériumok, koliform baktériumok, Gram-pozitív kokkusok és pálcák, aerob spórás baktériumok, valamint élesztő- és penészgombák.

2.5.1. Növényi nyersanyagok romlása

A növényi nyersanyagok romlása során megkülönböztetünk:

- aktív romlást, melyet a növénypatogén mikroorganizmusok okoznak és képesek behatolni az egészséges és ép növényi felületen;
- passzív romlás esetén az opportunista mikroorganizmus a sérült bőrszöveten keresztül hatol be a szövetekbe.

A zöldségek és gyümölcsök romlási mikrobataársulásának kialakításában a külső környezeti tényezők mellett, a termékben érvényesülő belső tényezők hatása is jelentős. A belső tényezők közül a termék kémiai összetétele, vízaktivitása, pH-ja, redoxpotenciálja döntő. A zöldségfélék átlagos víztartalma csaknem 90%. A magvak kivételével a növényi szövetek fehérjetartalma alacsony (átlagosan kb. 2%). A szénhidrátok átlagos mennyisége kb. 7%, a zsírok, vitaminok és szerves sók összesen kb. 1%-ot tesznek ki. Ez az összetétel megfelelő tápanyagforrás mindenfajta mikroorganizmus szaporodásához. A zöldségfélék nagy vízaktivitása és (a paradicsom kivételével) átlagosan 5–6 körüli pH-ja megfelel a legtöbb baktérium szaporodásának. A nagy oxidációs-redukációs potenciál következtében elsősorban az aerob és fakultatív anaerob baktériumoknak nyújtanak kedvező szaporodási körülményeket (Deák et al., 2006).

A zöldségek mikrobákkal történő fertőzését, valamint, hogy a fertőzésből kialakuljanak a romlás tünetei, a növénykórokozó szervezetek virulencia faktorai, és a növényi szövet természetes védekező mechanizmusa közötti bonyolult kölcsönhatás határozza meg. A legtöbb mikroorganizmus csak seben, vagy valamely nyitott csatornán (pl. légzőnyílás) keresztül tud behatolni a zöldségbe illetve a gyümölcsbe.

A mikrobák három fő csoportja a baktériumok, élesztőgombák és penészgombák közül a gyümölcsökön főként élesztők, a zöldségeken penészek és baktériumok okoznak romlást (Brackett, 1987; Splittstoesser, 1987; Lund és Snowdon, 2000). Ennek oka a növény víz- és szénhidrátartalma, amely kedvez az élesztő és penészgombák növekedésének. A mikrobioták többségét élesztőgombák alkotják. A

leggyakoribbak a *Hanseniaspora*, *Torulaspóra*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Candida* és *Rhodotorula* fajok.

A növényi nyersanyagok feldolgozása során a minimálisan 60 °C-ra növelt hőmérséklet mikrobapusztító hatása igen számottevő. Bár az előfőzés a pasztörözésnél is enyhébb hatású, mégis két-három nagyságrendnyi mikrobaszám-csökkenést eredményez. A hőkezelt anyag fizikai, kémiai állapota viszont változásokon megy át (pl. fehérjék denaturálódnak, szénhidrátok hidrolizálódnak).

A korszerű vákuumos eljárások kedvezőbbek a termékminőségre, de mikrobiológiai hatásuk mérsékeltőbb az alacsonyabb (50–60 °C) hőmérséklet miatt. Még ezekben a berendezésekben is gondolni kell a termofil baktériumok túlélésére, illetve felhalmozódására. (Barta és Körmeny, 2007)

2.5.2. Romlást okozó élesztőgombák

Mikrobiális ökológiai szempontból minden élelmiszer az élesztőgombák lehetséges helyéül szolgálhat, hiszen tápanyagokban gazdagok. Ha a körülmények lehetővé teszik az élesztők elszaporodnak, és a termék romlását okozzák. Ez megnyilvánulhat látható jelenségekben (üledék, bevonat, elszíneződés) vagy az élelmiszer érzékszervi tulajdonságainak megváltozásaiban, amelyek azt fogyasztásra alkalmatlanná teszik (Fleet, 1992, Tudor és Board, 1993, Deák és Beuchat, 2007).

Az élesztőgombák szaporodásának minimális vízigénye kisebb, mint a baktériumoké. A szárazságedvelő (xerofil) élesztőket korábban ozmofil névvel illették, és 0,62 a_w értéket is megadtak szaporodásuk minimális határaként. Újabb vizsgálatok ezt nem igazolták, és laboratóriumi

körülmények között sem találtak 0,67-nél kisebb vízakтивitásnál szaporodni képes törzset. A vízakтивitás hatása függ a mikrobák szaporodására ható más tényezőktől is (hőmérséklet, pH, az oldott anyag minősége) (Deák et al. 2006).

Az élesztők általában hőérzékenyek, és csak kevés éli túl a pasztörözést. 55 °C –nál nagyobb hőmérsékleten az élesztők néhány perc alatt elpusztíthatók, tehát a hőtűrésük a vegetatív baktériumokéhoz hasonló, vagy annál is kisebb. Deák (2006) vizsgálatai szerint a tizedelési idejük 55 °C-on 1-5 perc, 60 °C-on kevesebb mint 0,1 perc. A hőpusztulás sebessége a hőmérséklet 4-5 °C-os emelésével tízszeresére nő (Deák, 1998). Az élesztők hőtűrése a savasabb tartományban kisebb, viszont a vízakтивitás csökkenésével fokozódik. Az élesztő aszkospórái azonban 10 °C-kal is nagyobb hőmérsékletet képesek túlélni, mint a vegetatív sejtek (Török és King, 1993).

A mikrobiológiai romlás járhat szemmel látható gázképzéssel, zavarosság, hártya, üledék képződésével, idegen íz, illat kialakulásával. Az élesztőgombák által okozott romlásban szerepet játszó leggyakoribb fajok a *Dekkera bruxellensis*, *Dekkera naardenensis*, *S. cerevisiae*, *S. bayanus*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Zyg. bisporus*, *Zyg. microellipsoides*, *Zyg. rouxii*, *Tr. delbrueckii*.

Különleges figyelmet érdemel a *Zygosaccharomyces bailii* ozmotoleráns élesztőgomba, amely viszonylag lassan szaporodik (generációs ideje 2,5 óra), és tartósítószer rezisztenciájával jól tűri a magas glükózkoncentrációt, és a termékben rendkívül kis számban (akár 1 sejt/l koncentrációban) túlélve, majd elszaporodva képes romlást okozni. (Deák et al. 2006).

2.5.3. *Zygosaccharomyces bailii* élelmiszer-higiéniai jelentősége

A *Zygosaccharomyces bailii* élesztőgomba a gombák Ascomycota törzsébe ezen belül a Saccharomycetes osztályába tartozik. Kezdetben Linder 1895-ben *Saccharomyces bailli*-nek nevezte (Linder, 1901). Később, 1983-ban nevezték el *Zygosaccharomyces bailii*-nek (Barnett et al. 1983).

Élelmiszeriparban széles körben elterjedt fajról van szó, kivételes toleranciája miatt jelentős gazdasági veszteségeket okozhat (James és Stratford, 2003). A *Zygosaccharomyces* fajok sejtjei előfordulhatnak önállóan vagy párban, mikroszkópos megjelenés tekintetében lehetnek gömb, henger vagy ellipszoid alakúak (James és Stratford, 2011; Thomas és Davenport 1985). Kiemelkedő tulajdonsága, hogy ellenáll a gyenge savaknak és tartósítószernek, mint az ecetsav, tejsav, propionsav, benzooesav és szorbinsav.

Erickson és McKenna, (1999) vizsgálatai szerint a *Zygosaccharomyces bailii* képes tolerálni a magas etanol koncentrációt ($\geq 15\%$ (v/v)). Széles tartományok (pH= 2,0 – 7,0) és vízaktivitási viszonyok ($a_w = 0,80 - 0,99$) között is képes a szaporodásra valamint magas cukor (50-60%) és ecetsav toleranciát mutat (2,0-2,5%). Élelmiszeripari tartósítószerrel, például a benzooesav és sóival szemben rezisztens, amelyek az élelmiszeriparban elsősorban az élelmiszerbe esetlegesen bekerült penészgombák, élesztőgombák, és egyes baktériumok szaporodását akadályozzák meg (Warth, 1991). A sejtbe való bekerülést követően a foszfofruktokináz nevű enzim működését blokkolják a cukor lebontása során, így a gombák és a baktériumok számára a cukorbontás 95%-át megakadályozzák,

gátolva így a szaporodást. A gátlás savas pH mellett ($\text{pH} < 5$) történik. Ezért a benzoésav és sói hatékonysága az élelmiszer pH értékétől függ (Pastrorova et al. 1997). Az erősen ellenálló *Z. bailii* stimulálja a tartósítószerket, mivel az élesztő képes túlélni és legyőzni szinergikus tartósítószer kombinációját (Sousa et al. 1996).

A savas élelmiszerek, mint például a gyümölcslevek (citromsav tartalom miatt), üdítőitalok (foszforsav tartalom miatt), savanyúságok (ecetsav miatt), és más élelmiszerek tartósítását benzoésavval és annak sóival végzik. A benzoésav az élelmiszerekben általában 0,05-0,1%-os töménységben található meg. Maximum felhasználható mennyiségét nemzetközi szabályozások határozzák meg (Európai Parlament és a Tanács 95/2/EK irányelve).

Amellett, hogy tartósítószer rezisztens faj, képes erőteljesen fermentálni a cukrokat, például a glükózt és fruktózt (James és Stratford, 2003). A *Z. bailii* ellentétben a legtöbb élesztővel gyorsabban metabolizálja a fruktózt, mint a glükózt így sokkal gyorsabban mutat növekedést fruktózt tartalmazó $\geq 1\%$ (w / w) élelmiszereknél (Erickson és McKenna, 1999, Thomas et al. 1985). A legmagasabb toleranciaképességgel a magas só koncentráció függvényében Praphailong és mtsai (1997) figyelték meg, melynek során a 12,5%-os NaCl koncentráció mellett is élettevékenységet mutatott a *Z. bailii*.

A legtöbb fakultatív fermentatív élesztő faj nem képes növekedni oxigén hiányában. De oxigén elvonása során a sous-vide termékek esetében a megfigyelték, hogy a legtöbb élelmiszerrömlést okozó fermentatív élesztők közül a *Z. bailii* képes gyorsan növekedni anaerob körülmények között is (Rodrigues et al. 2001).

2.6. Az élelmiszerek eltarthatóságának biztosítása hőkezeléssel

A tartósító hőkezelés célja élelmiszerbiztonsági szempontból: mikrobiológiailag stabil, eltartható termék előállítása, melynek fogyasztása az ember számára nem vet fel egészségügyi kockázatokat (ételmérgezések: azonnali hatás, élelmiszer eredetű megbetegedések: hosszabb távú hatás). Közben ügyelni kell arra, hogy a termék minősége a hőkezelés során és a tárolás során ne változzon hátrányosan.

Az élelmiszerek hőkezeléses tartósítása során a sterilitás sok esetben csak a minőség számottevő csökkenésével érhető el, viszont a nagy hőmérsékletű, hosszú idejű hőkezelés után már nagy valószínűséggel állítható, hogy mikrobiológiai romlás nem fog előfordulni a tárolás során. Ezen probléma megoldására kezdtek el foglalkozni a hőkezelésre kerülő élelmiszerek alapvető fizikai-kémiai és mikrobiológiai jellemzőt figyelembevevő hőkezelés technológiák méretezésével (Barta és Körmendy, 2007). A hőkezelés során az enzimek inaktiválódnak, és így az általuk okozott káros bomlási folyamatok mértéke később jelentősen lecsökken. A fehérjék denaturálódnak, a mikrobiológiai romlást okozó mikrobák száma csökken. A zöldségek klorofill tartalmának egy része feofitinné alakul. A vízben való hőkezelés során nagymértékű kioldódás következik be, mivel főzővízzel együtt cukrok, vitaminok, ásványi sók, enzimek távoznak.

2.7. Hőkezelés, mint kíméletes élelmiszer kezelési eljárás

Az emberiség a fejlődés során folyamatosan új módszereket fedezett fel, melyek segítségével ételeit, élelmiszereit finomabb, könnyebben emészthető, biztonságosabb illetve hosszabb ideig eltartható formába alakította át. A természet törvényeinek tapasztalati úton történő megismerésével elterjedté váltak a szezonálisan jelen levő élelmiszerek különböző tartósítási módszerei. A fogyasztói elvárások a feldolgozott és tartósított élelmiszerek tekintetében egyre kritikusabbak a tartósítószer, mesterséges adalékanyagok, színezők és ízesítőszer tekintetében, egyre nagyobb előnyben részesítik a magasabb táplálkozási értéket nyújtó, természetes érzékszervi tulajdonsággal rendelkező élelmiszereket. Így az érzékszervi és táplálkozási jellemzők megtartása érdekében a kíméletes élelmiszertechnológiai eljárás a hagyományos eljárások helyettesítését célozzák meg.

A technika és a természettudományok fejlődésével ezen ételkészítési módszerek, az eltarthatóság növelését célzó eljárások finomodtak, alkalmazásuk tudatosabbá vált. Az 1960-as évek végén megjelent egy új hőkezelési eljárás a *sous-vide* technológia, melyben különböző húsipari termékeket légtelenített, majd leforrasztott tasakokban előre meghatározott hőmérsékleteken hőkezelték.

2.7.1. A sous-vide technológia

A *sous-vide* (ejtsd: szu vid, magyarul vákuum alatt) egy francia kifejezés az élelmiszer fóliás csomagolását, vákuumozását, majd a csomagban való kíméletes hőkezelését jelenti, amely minden esetben 100 °C alatti

hőkezelést jelent. Az eljárás során a nyersanyagot, vagy a félkész élelmiszert szigorúan kontrollált körülmények között (hőmérséklet és időtartam) hőálló vákuumtasakokban főzzük (Schellekens, 1996). Az élelmiszerek széles skáláját (húsok, zöldségek, gyümölcsök) kezelik e technológiával, melyeket főleg a catering szektor használ fel ételkészítésre. Manapság a sous-vide termékek európai piaca növekvő tendenciát mutat (Olhsson, 2000). Az európai élelmiszerpiacon 2000-ben mintegy 9 milliárd euró értékben forgalmaztak ilyen típusú termékeket. A sous-vide eljárással meghosszabbítható az élelmiszerek eltarthatósága. (Armstrong és McIlveen, 2000; Creed, 1995; González et al. 2005, Mossel és Struijk, 1991; Vaudagna et al. 2002).

Az eljárás tehát egy professzionális főzési módszer, amely oxigénmentes környezetben, pontos hőmérséklet-ellenőrzés mellett csökkenti az oxidációt, és megnöveli a fogyaszthatóságot a baktériumok szaporodásának megakadályozása által. Az eredmény egy tökéletes állagú, ízű és minőségű végtermék (Church, 1998; Creed, 1998; García García- Linares et al. 2004; Ghazala et al. 1996; Lassen et al. 2002; Schellekens, 1996).

2.7.2. A molekuláris konyha és a sous-vide története

Napjainkban egyre nagyobb hangsúly helyeződik a tudatos táplálkozásra, és ezzel párhuzamosan megnőtt a kereslet a megbízható forrásból származó, aggálymentesen fogyasztható élelmiszerek iránt. Ennek egyik oka, hogy lassan, de folyamatosan beférkőzik a fogyasztók tudatába az egészséges táplálkozás jelentősége, és az ehhez szükséges, jó minőségű élelmiszerek meglétének és beszerezhetőségének fontossága.

Az élelmiszerrel foglalkozó tudósok az 1990-es évektől kezdve vizsgálják aktívabban a sous-vide eljárásokat (Mossel and Struijk, 1991; Ohlsson, 1994; Schellekens, 1996), főként a tartósság meghosszabbítása tekintetében. Az erőfeszítések úgy tűnik sikerrel járnak, mivel a sous-vide termékek okozta fertőzéseket sem a szakirodalom, sem az adatbázisok nem közölnék. (Peck et al. 2006).

Az világ nagy éttermeinek séfjei már a 70-es évek óta alkalmazzák a sous-vide eljárást, de széles körben ismertté csak a 2000-es évek elején vált (Hesser 2005; Roca and Brugués, 2005). 2000 és 2010 között óriási érdeklődés mutatkozott a sous-vide iránt.

A húsipari kísérletekkel párhuzamosan folytak kutatások a légi-közlekedési étkeztetés területén is, ahol olyan félkész ételek előállítása volt a cél, amelyeket csak melegíteni kell a felszolgálás előtt.

Az élelmiszeripar gyorsan felismerte a „sous-vide” technológia előnyeit, s számos területen alkalmazza mind a mai napig (Hesser, 2005).

A bevezetőben részleteztem az alacsony hőfokon végzett kezelések előnyeit, de hogy miért is jobb a lassú főzés, azzal nem foglalkozott senki, eltekintve néhány elkötelezett fizikustól és kémikustól, pl. Jean Anthelme Brillat- Savarin, aki „Az ízek élettana” címmel az 1800-as években foglalta össze ennek előnyeit. Szerinte „a jó konyhafőnöknek tisztelnie kell a természet örök törvényeit, ezen kívül mesterien kell bánnia a tűzzel” - azaz a tökéletes étel a hőmérsékleten múlik.

A sous-vide kifejezésről megint a francia konyha juthatna eszembe, de mint sok mindenben, a sous-vide alapjainak megteremtésében is nagy szerepet játszott egy magyar fizikus, Kürti Miklós munkássága, akit sokan az első molekuláris gasztronómusként tartanak számon. Ő rendezte

meg Hervé This kollegájával az első Molekuláris és Fizikai Gasztronómiai Konferenciát, mivel vallotta, hogy a kémiát és a fizikát nem lehet elkülöníteni a konyhától. Ez alapján megalkotta a tökéletes 3 perces tojás elméletét. Kürti szerint a tökéletes 3 perces lágytojást 65 °C-on és 1 óráig kell főzni. Ez az a hőmérséklet ugyanis, amelyen a tojásfehérje már megszilárdul, a sárgája azonban még folyós marad, és ez az az időintervallum, amely alatt a tojás külső és belső hőmérséklete pontosan eléri a 65 °C-ot. 64,5 °C-on kicsapódnak a tojásfehérjében lévő fehérjék, a sárgájában található fehérjék azonban csak 65 °C fölött, ezért tanácsos 64 és 65 °C között, és semmiképp nem 65 °C fölött hőkezelné a tojást. Ugyanez igaz a libamájra, sertéssültre, marhapecsenyére, kacsamellre, zöldségekre, vagy épp a lekvárra: mindegyiknek megvan a maga elkészítési hőmérséklete, módja és hőkezelési ideje, amely 1 és 120 óra között változhat. (URL¹)

A sous-vide technológia kidolgozása Georges Pralus nevéhez fűződik, köszönhetően a 70-es évek technikai fejlődésének (műanyagzacskó és vákuum). Ezek a felfedezések, eredmények, ötvözve a 70-es 80-as évek technológiájával adták meg a lehetőséget arra, hogy a sous-vide forradalmasíthassa a gasztronómiát. A sous-vide technológiát mai pozíciójába Bruno Goussault, a Cuisine Solution vezető tudósa emelte.

A sous-vide alkalmazása nagyon egyszerű, gyakorlatilag bármilyen ételt sous-vide-olhatunk. Ehhez legalább 3 eszközre van szükség: az egyik a vákuumozó, amely majdnem teljesen oxigén- és légmentes teret hoz létre az alapanyagok körül. Ennek előnye, hogy megakadályozza az oxidációt, így nem történik jelentősebb elszíneződés, illetve megátolja az aerob baktériumok szaporodását. További előny, hogy vákuumban, azaz

légyeres térben a víz forráspontja 100 °C-ról 20 °C-ra csökken. A másik eszköz a temperáló termosztát, amely tizedfok pontossággal hőkezeli a terméket. Ugyanis a pontos hőkezelés a sous-vide technológia lelke. A hőmérséklet jelentősége abban áll, hogy a különböző fehérjék különböző hőmérsékleten csapódnak ki, így tehát a hőkezelésnek figyelembe kell vennie az anaerob baktériumok elpusztításának hőmérséklet és időigényét a fehérjekicsapódás megelőzésével. A hőkezelés után a sous-vide-olt termék maghőmérsékletét gyors (sokkoló) hűtéssel 3 °C alá kell csökkenteni (Cook és Chill), melynek eredményeképpen a terméket legalább 21, legfeljebb 40 napig tárolhatjuk minőségromlás nélkül. Utószennyeződés kizárva, mivel a termék a felhasználásig légmentesen zárt csomagban kerül raktározásra. Amennyiben -18 °C-ra fagyasztjuk a terméket, az eltarthatósági idő akár 18 hónapra emelhető.

Felhasználás előtt 60 °C-os temperáló fürdőben felmelegítjük a terméket, a hőmérséklet pontosságát maghőmérővel ellenőrizzük, ezután elkészítjük (grill, serpenyő, szalamander, fritu) és tálaljuk az ételt. A sous vide technológiát alkalmazhatjuk tradicionális termékek előállításánál is, (Cook és Fill), ahol a termékeket a hagyományos módon készítjük el, és porciónként vákuumozzuk, így ezen termékek eltarthatósági idejét is akár 40 napra emelhetjük, minőségromlás nélkül.

2.7.3. A sous-vide alaplépései

A sous-vide készítmények előállítási technológiája több lépcsős folyamatból tevődik össze (Polyákné és Dalmadi, 2007):

1. Nyersanyagok kiválasztása, előkészítés során fontos ezen felhasznált anyagok mikrobiológiai tisztasága. Az élelmiszer-feldolgozó

műveletek, szállítás, forgalmazás során követett higiéniai gyakorlat befolyással van a hűtött élelmiszerek mikroközösségére. Mivel ezen termékek egy része nem kap hőkezelést a feldolgozás során, amely patogén mikrobákat elpusztítaná, így csak a sous-vide technológia gondoskodik a termék eltarthatóságáról. Tehát nem mindegy milyen mértékű a nyers- és alapanyagok indulási mikrobaszáma a termék feldolgozás során.

2. Az alapanyagok vákuumcsomagolása során elengedhetetlen feltétel a megfelelő csomagolóanyag kiválasztása. A vákuumtasakok összetételénél nagyon fontos szempont, hogy hőrezisztensek legyenek, azaz hő hatására ne váljanak ki a műanyag tasakból mérgező anyagok. Ezért csak a speciális sous-vide tasakok alkalmazása javasolt. A vákuumtasak vastagsága mikronokban fejezhető ki. A sous-vide minimális követelménye a 9 mikron tasakvastagság. Minél nagyobb a vákuumtasak vastagsága, annál nagyobb a hő tolerancia, tehát a mérgező anyagok is kisebb eséllyel oldódnak ki a termékből (URL ¹).

3. Hőkezelés során a cél, hogy az élelmiszer minden alkotórésze elegendő hőkezelést kapjon, az érzékszervi tulajdonságai kialakuljanak és az élelmiszer minden pontján bekövetkezzen az esetleg jelen lévő mikroorganizmusok kívánt mértékű csökkenése.

4. Gyors lehűtés folyamata során a cél a fentiekben hőkezelt vákuumcsomagolt termék hőmérsékletének csökkentése a sokkolóberendezéssel, hogy a kórokozó mikroba a lehető legrövidebb időt töltsen a szaporodása szempontjából veszélyes hőmérsékleti tartományban (+55-10 °C) között. Ghazala et al. (1996) szerint a hűtést a hőkezelés után 2-3 percen belül meg kell kezdeni.

5. Hűtve tárolással gátolható, illetve lassítható a kórokozó baktériumok szaporodása. Az Európai Hűtőipari szövetség a sous-vide termékek 0-3 °C közötti hőmérsékletet ajánlja, mivel itt nem áll fenn a pszichotróf *Clostridium botulinum* szaporodásának és toxintermelésének kockázata.

6. Felmelegítés során a vákuumcsomagolt termék optimális érzékszervi tulajdonságainak kialakítása a cél. Forró serpenyőben, grillsütőben vagy grillrácon kérget képezünk a húson, így szép arany színt és karamellizált ízt kap a termék.

2.8. A sous-vide és az élelmiszer-biztonság

2.8.1. Minőségi- és mikrobiológiai biztonsági szempontok

Természetesen a főzés folyamán fontos szerepe van a biztonságnek, maradjunk a tojás példájánál. Kürti Miklós kísérletekkel bizonyította, hogy 60 °C fölötti hőkezeléssel az előzetesen beoltott tojás szalmonella-mentessé válik. A sous-vide technológiához tartozó biztonsági hőkezelési zónahatárokat Georges Pralus alkotta meg. A sous-vide mögötti tudomány abban áll, hogy ismerjük az adott nyersanyagra vonatkozó eljárási folyamatokat, idő- és hőmérséklet-arányokat, amelyek alkalmazásával optimális íz, szín és textúra érhető el úgy, hogy a baktériumok minden vegetatív formáját elpusztítjuk, a légmentes térben pedig az utófertőződés elméletileg lehetetlen.

A sous-vide termékek biztonsági és minőségi szempontból megkívánják a kiváló higiénia gyakorlati alkalmazását, az ellenőrzési és felügyeleti rendszert a gyártás kezdeti fázisától a fogyasztásig. A kis hőmérsékletű

hőkezelés csak a vegetatív sejtek pusztulását biztosítja, a spórás patogén és romlást okozó mikrobák ellen a gyors hűtés és alacsony hőmérséklet nyújt biztonságot.

A kéméletes technológia a termékminőség szempontjából nem feltétlenül biztonságos, az élelmiszerekkel közvetíthető mikroorganizmusok elpusztítását illetően. Az ECF (European Chilled Food Federation) a hűtőipai szövetség ajánlása alapján kétfajta biztonsági kritériumot állapított meg:

- Néhány napnyi, átmeneti hűtőtárolásra szánt sous-vide termékek esetében, ha nincs más egyéb tartósító behatás, a minimális hőkezelési szükséglet 70 °C-on 2 perc vagy ezzel ekvivalens hatású hőterhelés. Mivel itt feltételezhető, hogy ez a hőkezelés elegendő pl. a *Listeria monocytogenes* patogén mikroba 6 nagyságrendnyi élősejtszám csökkenéséhez. Az ilyen termékeket legfeljebb 5 napig 3 °C-nál alacsonyabb hőmérsékleten szükséges tárolni, hogy a spórás *Clostridium botulinum* pszichotróf típusai elszaporodására ne legyen lehetőség.
- Néhány hétnyi, hosszabb hűtőtárolásra szánt sous-vide termékek esetében, ha nincs más egyéb tartósító behatás, a minimális hőkezelési szükséglet 90 °C-on 10 perc vagy ezzel ekvivalens hatású hőterhelés szükséges a pszichotróf *Clostridium botulinum* spórák 6 nagyságrendnyi pusztulásához (Polyákné és Dalmadi, 2007).

2.9. A sous-vide előnyei

Míg alig 50 évvel ezelőtt az ételek sütési hőmérsékletét sem ismertük, addig ma már az ételeket részecskéikre tudjuk bontani, köszönhetően a kémiának és a fizikának. Az élelmiszer egy PE/PVOH

(polietilén/polivinil-alkohol) típusú tasakban, légmentesen lezárva pontosan szabályozott hőmérsékletű hőkezelés során (vízfürdőben vagy gőzsütőben) készül el, vagy kerül félkész állapotba. A technológia alkalmazása számos előnnyel jár. A környezettől az élelmiszert légmentesen elszigetelő csomagolás megelőzi, hogy az érzékelési szempontból értékes összetevők, az íz és aroma molekulák a környezetbe eltávozzanak. Továbbá az anaerob körülmények megelőzik kellemetlen ízhatást okozó molekulák képződését, oxidációs folyamatok gátlása révén (Church et al. 2000). Élelmiszer-biztonsági szempontból fontos megemlíteni az aerob mikroorganizmusok szaporodásának visszaszorulását, így az eltarthatósági idő növekedését.

Tehát sous-vide-olás után a termék majdnem ugyanolyan színű és állagú marad, mint a kezelés előtt volt. A hőkezeléssel pedig biztosítjuk a termék mikrobiológiai biztonságát, termékre specifikusan, figyelembe véve a hő és az idő viszonyát.

A gazdasági előnyökre vetítve a sous-vide technológiával felszerelt konyha létesítése közel feleannyi költséget emészt fel, mint a tradicionális á la carte konyha. Az üzemeltetése során pedig úgyszintén közel 50%-os megtakarítás érhető el teljeskörű sous-vide koncepció alkalmazása esetén.

2.10. A sous-vide technológia alkalmazása a gyakorlatban

Az előkészítés során figyelembe kell venni, hogy fűszerezéskor vagy pácoláskor néhány fűszer a vártnál erősebb ízhatást eredményez. Pácolás hagyományos módokon történhet, a hőkezelés végrehajtható a páclével

együtt, de az alkohol tartalmú páclé (bor) az alkohol alacsony forráspontja miatt a hús nem egyenletes hőkezelését eredményezheti, ha gőzzé alakulva módosítja a hőátadás körülményeit. Az előzetes sópác alkalmazása (30-100 g/l) sertés illetve baromfihús esetén csökkenti az összehúzódáskor fellépő vízkiszorító hatást, így a vízvesztés leszorítható 20%-ról 12%-ra (McGee, 2004). A hőkezelést bevett gyakorlat szerint gőzsütőben vagy vízfürdőben végzik. Egy tanulmány szerint, amely tíz különböző típusú gőzsütőt vizsgál a sous-vide technológia alkalmazásánál - a gőzsütő nem optimális eszköz. Az egyes gőzsütőkbe több mintát helyezve azt tapasztalták, hogy a mérések mintegy 70-200%-os időbeli eltérést mutattak a kívánt maghőmérséklet elérésében. A tanulmány szerint a szórás annak tulajdonítható, hogy a gőz 100 °C alatti hőmérsékleten nem egyenletes eloszlású a térben. Vízfürdőt alkalmazva 0,05 °C alá szorítható a különböző mintákban adott időpontokban mért hőmérsékletek varianciája (Sheard és Rodger, 1995). Vízfürdő alkalmazása esetén a hőkezelés hőmérsékletét az elérni kívánt maghőmérsékletnél 0,5 °C-kal magasabb hőmérsékletre érdemes beállítani. Az elérni kívánt maghőmérséklet, és a hőátadó közeg közti kis hőmérséklet különbség lehetővé teszi a minta adott hőmérsékleten történő tartását, pasztőrözését, annak „túlkészítése” nélkül.

2.11. A hús elkészítési módjairól röviden

A különböző típusú húsokat a „hagyományos” konyha számtalan módon készíti el. A fehér izomszövetben bővelkedő, sokszor magas kötőszövet tartalmú húsokat hosszabb ideig (órákon át) levesnek, ragúnak, a víz

forráspontjához közeli hőmérsékleten (az esetleges kezdeti pörköléstől eltekintve) készítik vagy bázírozzák (fűszerekből, zöldségekből a gőztérbe párolgott aromákkal teli zárt rendszerben bor, brandy és zsiradék kíséretében). A precízebb konyhai eszközök elterjedésével megjelentek az optimális készítési hőmérsékletet figyelembe vevő hosszabb idejű, alacsonyabb hőmérsékletű sütési eljárások, de ez nem feltétlen jelent sous-vide technológiát. Ezen elkészítési mód a hőkezelés a hőmérsékletétől függően a porhanyósság kialakulásáért felelős enzimek működését fokozza, illetve a kollagént hidrolizálja. A vörös izomszövetben gazdag húsok, mint például a marhahátszín, jellemző készítési módja a roston sütés vagy zsiradékban való kisütés serpenyőben. Ezen húsok szerkezete megengedi, hogy alacsonyabb maghőmérsékletet elérve is porhanyósak legyenek, míg az optimálisnál magasabb hőmérséklet vízvesztéshez és az élvezeti érték csökkenéséhez vezet.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

Vizsgálataimat a Nyugat-Magyarországi Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Karának Élelmiszertudományi Intézetében működő NAT-1-1674/2012 számon akkreditált Élelmiszer és Vízvizsgáló laboratóriumában végeztem. Kísérleteimben két élelmiszer patogén baktérium a *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T típus törzsének és koaguláz pozitív *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 törzsének hőpusztulását vizsgáltam sous-vide technológiát modellezve mesterséges tápközegben, és élelmiszer mátrixban (sertés hús). Kontrollként kezeletlen mintákat alkalmaztam. Vizsgálataimat eltérő hőfokon, de ugyanezen körülményeket modellezve *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T élesztőtörzsszel is elvégeztem, mely faj jelentőségét a sous-vide termékek tárolása során korábban ismertettem. A modell közeg mellett élelmiszer mátrixként zöldség mixet alkalmaztam.

3.1. Anyagok

3.1.1. Tápközegek

A kísérleteink során a törzsek felélesztéséhez és szelektív tenyésztéséhez használt tápközegek az alábbiak voltak. Az összetevők 1 dm³ mennyiségre vonatkoznak.

Caso leves (CAS) /Sigma-Aldrich/

Összetevő	Mennyiség (g/dm ³)
Kazein pepton	17
Dikálium-hidrogén foszfát	2,5
D(+)-glükóz	2,5
Nátrium-klorid	5
Szója pepton	5

Trypton Szója Agar (TSA) /Sigma-Aldrich/

Összetevő	Mennyiség (g/dm ³)
Kazein pepton	15
Szója pepton	5
Nátrium-klorid	5
Agar	15

Fiziológiás sóoldat /Sigma-Aldrich/

Összetevő	Mennyiség (g/dm ³)
Nátrium-klorid	8,5

Baird-Parker agar (BP) /Sigma-Aldrich/

Összetevő	Mennyiség (g/dm ³)
Kazein pepton	10
Agar	15
Glicerín	12
Lítium-klorid	5
Maláta kivonat	5

ALOA (Agar Listeria Ottavani & Agosti) agar /Oxoid/

Összetevő	Mennyiség (g/dm ³)
Hús pepton	18
Kazein hidrolizátum	6
Élesztő kivonat	10
Nátrium piruvát	2
D(+)-glükóz	2
Magnézium-glicerofoszfát	12
Magnézium-szulfát	0,5
Nátrium-klorid	5
Lítium-klorid	5
Dinátrium-hidrogénfoszfát (vízmentes)	2,5
Kromogén szubsztrát	0,05
Agar	15

Maláta kivonat leves (MEB /Malt Extrakt Broth) /Oxoid/

Összetevő	Mennyiség (g/dm ³)
Maláta kivonat	17
Baktopepton	3

Maláta kivonat agar (MEA /Malt Extrakt Agar/) /Sigma-Aldrich/

Összetevő	Mennyiség (g/dm ³)
Maláta kivonat	17
Baktopepton	3
Agar	15

Élesztőkivonat-dextróz-klóramfenikol (YGC) agar /Sigma-Aldrich/

Összetevő	Mennyiség (g/dm ³)
Élesztőkivonat	5
D(+)-glükóz	20
Klóramfenikol	0,1
Agar	10-15

Agy-szív infúziós agar (BHI/Brain-Heart Infusion agar) /Sigma-Aldrich/

Összetevő	Mennyiség (g/dm ³)
Agyvelő kivonat	7,8
D(+)-glükóz	2
Dinátrium-foszfát	2,5
Szív kivonat	9,7
Agar	15

Agy-szív infúziós leves (BHIB/Brain-Heart Infusion Broth) /Sigma-Aldrich/

Összetevő	Mennyiség (g/dm ³)
Agyvelő kivonat	7,8
D(+)-glükóz	2
Dinátrium-foszfát	2,5
Szív kivonat	9,7
Agar	15

3.1.2. A vizsgált törzsek rendszertani besorolása

Listeria monocytogenes (NCAIM B.01373^T):

A vizsgálataim alapjául szolgáló *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T számú törzset vákuumzárásos, dupla ampullás, liofilezett preparátum formájában szereztem be a Budapesti Corvinus Egyetem keretein belül működő Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteményéből (MIMNG). A típus törzs megfelel az ATCC (American Type Culture Collection) 19114 számú törzsének.

A Joseph Lister angol sebészről elnevezett gram pozitív baktérium rendszertani besorolása a 16S rRNS részleges szekvenciájának elemzése alapján:

Domén: Baktériumok

Törzs: Firmicutes

Osztály: *Bacilli*

Rend: *Bacillales*

Család: *Listeriaceae*

Nemzetség: *Listeria*

Faj: *Listeria monocytogenes*

Staphylococcus aureus (ATCC 25923):

A vizsgálataimban szereplő *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 törzset az American Type Culture Collection (ATCC) termékeinek magyarországi forgalmazójától szereztem be liofilizált preparátum, formájában. A a staphylē, "fürt" ill. kókkos, kókkos, "szemcse" görög

szavak alapján elnevezett gram pozitív baktérium rendszertani besorolása a 16S rRNS részleges szekvenciájának elemzése alapján:

Domén: Baktériumok

Törzs: Firmicutes

Osztály: *Bacilli*

Rend: *Bacillales*

Család: *Staphylococcaceae*

Nemzetség: *Staphylococcus*

Faj: *Staphylococcus aureus*

Zygosaccharomyces bailii (NCAIM Y.00954^T):

A vizsgálataimban szereplő élesztő típus törzset szintén a Budapesti Corvinus Egyetem keretein belül működő Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteményéből (MIMNG) szereztem be vákuumzárásos, dupla ampullás, liofilezett preparátum formájában. Az élesztő analógja az ATCC 58445 törzsnek. A tartósított élelmiszerekben különösen sok gondot okozó élesztőgomba molekuláris és filogenetikai alapú besorolása a következő:

Domén: Gombák

Törzs: Ascomycota

Altörzs: Saccharomycotina

Osztály: *Saccharomycetes*

Rend: *Saccharomycetales*

Család: *Saccharomycetaceae*

Nemzetség: *Zygosaccharomyces*

Faj: *Zygosaccharomyces bailii*

3.2. Eszközök

Kutató mikroszkóp G/433617 (Karl Zeiss AG, Germany):

A szintenyészetek jellegzetes telepeiből készített preparátumok mikroszkópos vizsgálatát, valamint az aszkospórák jelenlétének ellenőrzését 40x nagyítású száraz, illetve 120x nagyítású immerziós objektívvel végeztem.

WTB Binder BD-240 termosztát: (Binder GmbH, Germany): Az élesztő szintenyészetek előállításához, és a kísérletekhez szükséges friss tenyészetek szaporításához, valamint a szelektív tenyészetek inkubálásához (25 °C).

WTB Binder BD-53 termosztát: A *Listeria monocytogenes*, valamint *Staphylococcus aureus* szintenyészetek előállításához, a kísérletekhez szükséges friss tenyészetek szaporításához, valamint a szelektív tenyészetek inkubálásához (37±1 °C).

Webeco autokláv (Webeco, Bad Schwartau, Germany)

A táptalajok, hígító folyadékok sterilizálásához (121 °C, 15 min).

Lamináris fülke: Faster Model: FlowFAST V ISO Class III.

Densimat (bioMérieux[®], France): A sejtsűrűség beállításához (optikai denzitás mérés 550 nm-en).

Homogenizátor: Interscience Model: BagMixer[®] 400

Vákuumcsomagoló: Sammic Model: SV-310 S (1-99% légritkítás a vákuumozó térben)

Cirkulációs hőntartó: Instanta Model: SV25 L: hőkezeléshez

PCR rendszer: Thermo Scientific Model: Piko Real time 24/96 well plates PCR rendszer a qPCR vizsgálatokhoz

3.3. Módszerek

3.3.1. A *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T hőrezisztenciájának vizsgálati módszerei

Törzstenyészet készítés

A *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T törzsét tartalmazó dupla ampullás liofilezett tenyészetéhez fiziológiás sóoldatot pipettáztam, majd a preparátumokhoz kapott protokollban meghatározottak szerint 20 percig rehidratáltam. Ezt követően Caso levesbe oltottam, és 24+24 órán keresztül inkubáltam aerob körülmények között 37±1 °C-on. A levestenyészetből ritkító szélesztést végeztem szelektív ALOA agarlemezre, majd újabb 24-órás inkubáció következett 37±1 °C-on aerob körülmények között. Az így kapott tenyészetet gram-festést követően morfológiailag ellenőriztem (gram-pozitív, rövid pálcika alak). A hőkezelésekhez minden esetben szelektív ALOA lemezen elszaporított 24 órás tenyészeteket használtam. A tenyészetek sejtsűrűségét minden esetben Densimat® (BioMerieux) készülék segítségével ellenőriztem. A tenyészeteket agy-szív inflúziós agaron tartottam fent a kísérlet ideje alatt.

Hőtűrési vizsgálatok modell közegben

Modell tápközegként CASO levest alkalmaztam, amelyet előzetesen ALOA lemezen elszaporított *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T tenyészettel oltottam be, és 24 órát 37±1 °C-on inkubáltam. Az így kapott folyadék- tenyészetben lévő szubkultúrából 100 cm³-es egységeket

készítettem kísérletenként a mintavételek számának megfelelően, melyet a kezelési hőfokok függvényében a 2. táblázatban foglaltam össze.

2. táblázat: A *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T modell közegben végzett hőkezelése során alkalmazott hőmérsékletek és mintavételi időpontok

Idő (perc)	Légköri nyomáson csomagolt minták			Vákuumcsomagolt minták		
	55 °C	60 °C	65 °C	55 °C	60 °C	65 °C
0	x	x	x	x	x	x
0,5			x			x
1		x	x		x	x
2	x	x		x	x	
3		x			x	
4	x	x		x	x	
5					x	
6	x			x		
7						
8	x			x		
9						
10	x			x		

x: mintavétel

A Densimat® (BioMerieux) készüléssel végzett sejtszám ellenőrzést követően - amennyiben a sejtszámokat megfelelőnek ítéltam (min. $10^5/\text{cm}^3$) – a tenyészetet lamináris fülke alatt a sous-vide műveletekhez használatos steril hőálló műanyag tasakokba osztottam szét 100 cm^3 -ként. A vákuumcsomagolt minták előállításához a légritkítást 99%-os szintig (készüléken állítható) végeztem. A pontos kiindulási sejtszámokat tenyésztéssel is ellenőriztem, melynek eredménye a légköri minták esetében $1,6 \times 10^5\text{ CFU}/\text{cm}^3$, vákuumcsomagolt mintáknál pedig $7,6 \times 10^5\text{ CFU}/\text{cm}^3$ volt. A kialakított mintaegységekkel azonnal megkezdtem a hőkezelési kísérleteket. Ennek során a 2. táblázatban közölt hőfokokat és

hőntartási időket alkalmaztam. A cirkulációs hőntartóban végzett kezelések során a maghőmérsékleteket a készülékhez tartozó referencia hőmérővel ellenőriztem. A vákuumsomagolt és a kontroll (légköri nyomáson csomagolt) mintákat hőfokonként egyszerre helyeztem a cirkulációs temperáló vízfürdőbe. A mintavételek során mind a két minta csoportból egy-egy hőkezelt műanyag tasakot kiemelve kaptam a leoltások alapját képező mintaegységet. Ez biztosította a folyamatos és gyors mintavételt, amely az azonnali feldolgozások miatt elengedhetetlen, és csökkenti a hőtűrési vizsgálatok időtényezőjéből eredő pontatlanságot. A hőkezelt szuszpenziókból decimális hígítási sort készítettem, majd lemezöntéses-telepszámlálós módszerrel határoztam meg a sejtszámot.

Hőtűrési vizsgálatok élelmiszer mátrixban

A *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T törzs szelektív ALOA agaron 24 órás aerob körülmények inkubálással felszaporított tiszta tenyészetét 850 cm³ hígítóvízbe oldottam. Az előzetesen steril körülmények között ledarált, és alaposan összekevert sertés húsból hőálló műanyag tasakokban 100 g-os egységeket képeztem. A tasakok mindegyikét a *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T 30 cm³-nyi szuszpenziójával oltottam be. Az így kapott 27 mintaegység közül 13-at a sous-vide technológiának megfelelően 99%-os légritkítás mellett vákuumsomagoltam, 14-et pedig légköri nyomáson lezártam. A mintavételi időket és a hozzájuk tartozó hidegpontban mért hőmérsékleteket a 3. táblázatban foglaltam össze.

3. táblázat: A *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T sertéshúsban végzett hőkezelése során alkalmazott hőmérsékletek és mintavételi időpontok

Idő (perc)	Légköri nyomáson csomagolt minták			Vákuumcsomagolt minták		
	55 °C	60 °C	65 °C	55 °C	60 °C	65 °C
0	x	x	x	x	x	x
5			x			x
10	x	x	x	x	x	x
20	x	x	x	x	x	
30	x	x		x	x	
40	x	x		x	x	

x: mintavétel

A kiindulási sejtszámok tenyésztésének eredményei: légköri nyomáson csomagolt minták esetében $7,9 \times 10^6$ CFU/cm³, vákuumcsomagoltak esetében pedig $5,1 \times 10^6$ CFU/cm³. A hőkezelések során adott időpontban kivett mintaegységből lemezöntéses-telepszámlálós módszerrel határoztam meg a cm³-kénti sejtszámokat.

3.3.2. A *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 hőrezisztenciájának vizsgálati módszerei

Törzstenyészet készítés

A *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 törzset rehidratációs közeget tartalmazó műanyag ampullában, liofilezett preparátum formájában szereztem be az ATCC termékek hazai forgalmazójától. A liofilezett preparátumot megtörve az ampullát a benne lévő tápközegbe rehidratáltam, majd CASO levesben szaporítottam 24+24 órán át 37±1 °C-on, aerob körülmények között. A beoltott és zavarosodást mutató

táplevesből ritkító szélesztéssel Baird-Parker agarlemezek felületére szélesztettem, melyeket az előzőekhez hasonló körülmények között inkubáltam. A törzset gram festést követő morfológiai vizsgálat után (gram pozitív, coccus, tetrádokba rendeződve) TSA ferde tápagon tartottam fenn a kísérlet ideje alatt. A hőkezelésekhez minden esetben szelektív Bair-Parker agarlemezekon elszaporított 24 órás tenyészeteket használtam. A tenyészetek sejtsűrűségét minden esetben Densimat® (BioMerieux) készülék segítségével ellenőriztem.

Hőtűrési vizsgálatok modell közegben

A modell közegben végzett vizsgálatokat hasonlóan a 3.3.1. fejezetben a *Listeria* esetén ismertetett metodikával végeztem. A modell tápközeg ebben az esetben is Caso leves volt. BP tápagon elszaporított 24 órás tenyészettel az össz minta mennyiségnek megfelelő táplevest oltottam be és 24 órán keresztül 37 ± 1 °C-on aerob körülmények között inkubáltam. Az ebből hőtűrő műanyag tasakban kialakított 4. táblázatban ismertetett mintavételek számának megfelelő mennyiségű (31 db) 100 cm^3 tenyészetet tartalmazó mintaegységek képezték kísérleteim alapját.

4. táblázat: A *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 modell közegben végzett hőkezelése során alkalmazott hőmérsékletek és mintavételi időpontok

Idő (perc)	Légköri nyomáson csomagolt minták			Vákuumcsomagolt minták		
	55 °C	60 °C	65 °C	55 °C	60 °C	65 °C
0	x	x	x	x	x	x
1						
2			x			x
3	x	x		x	x	
4			x			x
5						
6	x	x	x	x	x	
9	x	x		x	x	
12	x	x		x	x	
15	x	x		x	x	

x: mintavétel

A mintaegységek közül 15 db-ot a sous-vide technológiának megfelelően 99%-os légritkítás mellett vákuumcsomagoltam.

A pontos kiindulási sejtszámok *Staphylococcus* esetében a légköri nyomáson csomagoltaknál $2,9 \times 10^6$ CFU/cm³, vákuumcsomagolt mintáknál pedig $3,2 \times 10^6$ CFU/cm³ volt, melyet tenyésztéssel is ellenőriztem. Kísérleteimben a vákuumcsomagolt és a kontroll (légköri nyomáson csomagolt) mintákat hőfokonként egyszerre helyeztem a cirkulációs temperáló vízfürdőbe és a 4. táblázatban közölt hőfokokat és hőntartási időket alkalmaztam. A cirkulációs hőntartóban végzett kezelések során a hőmérsékleteket a készülékhez tartozó maghőmérővel ellenőriztem. A mintavételek során mind a két minta csoportból egy-egy hőkezelt műanyag tasakot kiemelve kaptam a leoltások alapját képező mintaegységet. A hőkezelt szuszpenziókból decimális hígítási sort

készítettem, majd lemezöntéses-telepszámlálásos módszerrel határoztam meg a sejtszámot.

Hőtűrési vizsgálatok sertéshússal

A sous-vide technológia csírapusztító hatását minél életszerűbben modellezve a kísérleteket befertőzött sertéshús modellben is megismételtem az ide tartozó konyhatechnika paramétereit alkalmazva. Az élelmiszer mátrixban végzett hőkezelések a 3.3.1. fejezetben a *Listeria* esetében ismertetett módon zajlottak. Különbőség csupán az előkísérleteim alkalmával tapasztaltak alapján a hőntartási időkből volt. A kiindulási alapanyagot ledaráltam és elszívófülke alatt hőálló tasakokban 28 db 100 g-os csomagokat képeztem, az 5. táblázatban feltüntetett mintavételi gyakoriságnak megfelelően.

5. táblázat: A *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sertéshúsban végzett hőkezelése során alkalmazott hőmérsékletek és mintavételi időpontok

Idő (perc)	Légköri nyomáson csomagolt minták			Vákuumcsomagolt minták		
	55 °C	60 °C	65 °C	55 °C	60 °C	65 °C
0	x	x	x	x	x	x
3			x			x
6			x			x
9			x			x
10	x	x		x	x	
20	x	x		x	x	
30	x	x		x	x	
40	x	x		x	x	

x: mintavétel

Mindkét csoportot *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 törzs 30 cm³-nyi levestenyészetével fertőztem be, melyet előzetesen 37±1 °C-on aerob

körülmények között 24 órán át inkubáltam. Homogenizálás után a mintegységek felét 99%-os légritkítás mellett, másik felét légköri nyomáson csomagoltam. A kiindulási sejtszám az előbbinél $2,3 \times 10^6$ CFU/cm³, az utóbbinál pedig $5,2 \times 10^6$ CFU/cm³ volt.

A cirkulációs hőntartóba hőfokonként egyszerre behelyezett mintaegységek maghőjét ellenőrizve, az 5. táblázat alapján végeztem a hőkezeléseket. A mintavételek során kapott tételekből lemezöntéses telepszámálásos módszerrel határoztam meg a túlélő sejtek számát.

3.3.3. A Zygosaccharomyces bailii NCAIM Y.00954^T élesztő hőrezisztenciájának vizsgálati módszerei

Törzstenyészet készítés

A *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T dupla ampullás liofilezett preparátum formájában szereztem be a Budapesti Corvinus Egyetem keretein belül működő Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteményéből (MIMNG). A liofilizátumot 20 percig rehidratáltam, majd maláta kivonat levesben 48-72 órán át aerob körülmények között 26 °C-on tenyésztettem. A szaporodást mutató csövekből malátakivonat agarra szélesztettem, és az előzőekben ismertetett körülmények között inkubáltam. Az így kapott tenyészetet morfológiailag ellenőriztem (3.5 - 6.5 x 4.5 - 11.5 µm-es ellipszis alakú, nem mozgó, egyesével, vagy rövid láncokat alkotó multipolárisan sarjadzó élesztő), és ez képezte kísérleteim alapját, melyet annak ideje alatt ferde malátakivonat agaron tartottam fent. A beoltásokhoz minden esetben 48-72 órás tenyészetet alkalmaztam.

Hőtűrési vizsgálatok modell közegben

A modell közegben végzett vizsgálatokat malátakivonat levesben elszaporított *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T törzssel végeztem. A beoltást követően a levestenyészetet többször vortexelve 26±1 °C-on 48-72 óráig inkubáltam, majd a 6. táblázatban feltüntetett mintavételek számának megfelelően 38 db 100 cm³-es mintaegységet képeztem.

6. táblázat: A *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T típus törzssel modell közegben végzett hőkezelése során alkalmazott hőmérsékletek és mintavételi időpontok

Idő (perc)	Légköri nyomáson csomagolt minták			Vákuumsomagolt minták		
	50 °C	55 °C	60 °C	50 °C	55 °C	60 °C
0	x	x	x	x	x	x
1			x			x
2	x	x	x	x	x	x
3			x			x
4	x	x	x	x	x	x
6	x	x		x	x	
8	x	x		x	x	
10	x	x		x	x	
12	x	x		x	x	

x: mintavétel

Ezek felét hőálló polietilén tasakban 99%-osan vákuumsomagoltam, a többi kontrollként alkalmazva megkezdtem a hőkezeléseket a 6. táblázatban feltüntetett hőfokok és mintavételi gyakoriság mellett. A kiindulási sejtszámokat a hőkezelések indításakor levett mintákból tenyésztéssel határoztam meg, amely a légköri nyomáson csomagoltaknál

$5,1 \times 10^6$ CFU/cm³, vákuumcsomagolt mintáknál pedig $2,0 \times 10^6$ CFU/cm³ volt. A sous-vide technológiában is alkalmazott cirkulációs hőntartóban hőfokonként egyszerre behelyezett minták maghőjét szűrő hőmérővel ellenőriztem. Az adott időpontokban levett mintákból lemezöntéses- (maláta kivonat agarral, 26 ± 1 °C-on 48-72 órát inkubálva) telepszámlálós módszerrel határoztam meg a túlélő sejtek számát.

Hőtűrési vizsgálatok zöldség mixben

A *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T irodalomban is ismerttetten egyik jellemző előfordulási helye a szaprofita mikrobióta. Az innen származó élelmiszer-mátrixokban való hőpusztulásának modellezésére *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T törzzsel befertőzött zöldség mixet (összetevők: fejeskáposzta, sárgarépa, endívia saláta) hőkezelttem. A zöldség mátrix alkalmazásának metodikai okai voltak. A faj előfordulására jellemző gyümölcslevek a tápközeghez hasonlatos fiziológiai tulajdonságokkal bírnak, a gyümölcs pedig a homogenizálás során pépes állapotot vesz fel, amelyet a hőkezelés tovább fokoz, mindemellett az ilyen termékek sous-vidolása sem elterjedt. Az említett gyümölcsle és „velő” formákkal az előkísérleteimben dolgoztam, de a vákuumzárás sokadik kudarca után (a termék légritkítás hatására felhabzott még habzástgátló alkalmazása mellett is) eltekintettem alkalmazásuktól. Mivel a *Z. bailii* irodalmának feldolgozása közben találtam utalást zöldségben való előfordulására és mivel a zöldségek gyakran alkalmazott sous-vide alapanyagok, reológiai tulajdonságuk pedig megfelel vizsgálati céljaimnak döntöttem modell mátrixként való alkalmazásuk mellett. Ennek során a ledarált és

blansírozott (forrásban lévő vízbe mártva) zöldség mixek 100 g-os egységeit előzetesen 26 ± 1 °C-on malátakivonat levesben 48-72 óráig szaporított *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T levestenyészet 30 cm^3 -ével fertőztem be. A 38 mintaegység felét alapos homogenizálás után a sous-vide technológiának megfelelően 99%-os légritkítás mellett vákuumcsomagoltam. Az elkészített szuszpenziók indulási csíraszám a vákuumcsomagolt minták esetében $1,9 \times 10^6$ CFU/cm³, a kontrolloknál pedig $5,1 \times 10^6$ CFU/cm³ volt. A cirkulációs hőntartóban végzett kísérletek az élesztők hőérzékenysége miatt az előzőekben ismertetetteknél alacsonyabb hőfokon és rövidebb ideig történtek (7. táblázat)

7. táblázat: *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T zöldség-mixben végzett hőkezelése során alkalmazott hőmérsékletek és mintavételi időpontok

Idő (perc)	Légköri nyomáson csomagolt minták			Vákuumcsomagolt minták		
	50 °C	55 °C	60 °C	50 °C	55 °C	60 °C
0	x	x	x	x	x	x
1			x			x
2	x	x	x	x	x	x
3			x			x
4	x	x	x	x	x	x
6	x	x		x	x	
8	x	x		x	x	
10	x	x		x	x	
12	x	x		x	x	

x: mintavétel

A kontroll és vákuumcsomagolt mintákat hőfokonként egyszerre helyeztem a cirkulációs hőntartóba, ahol a maghőmérsékleteket szűrő

hőmérővel ellenőrizve a 7. táblázat alapján végeztem a hőkezeléseket. A mintavételek során kapott tételekből lemezöntéses telepszámálós módszerrel határoztam meg a túlélő sejtek számát.

3.3.4. *Tenyésztéses mikrobiológiai vizsgálatok*

Mind a modell, mind pedig az élelmiszer-mátrixban, 99% légritkítás mellett, illetve légköri nyomáson csomagolt mintaegységek feldolgozását azonos módon végeztem. A mintákból elkészítettem a decimális hígítási sorokat, amelyekből 1-1 cm³-nyi mennyiségeket steril Petri-csészébe pipettáztam, majd *Listeria* esetében ALOA, *Staphylococcus* esetében Baird-Parker, *Zygosaccharomyces* esetében pedig malátakivonat agarral lemezeket öntöttem. A baktériumokat 37±1 °C-on 24+24 óráig, az élesztőt pedig 26±1 °C-on 48-72 óráig aerob körülmények között inkubáltam. Minden kísérleti sort 2 ismétlésben végeztem, hígításonként 2 párhuzamos leoltással. Az értékelésbe azon hígítási szinteket vontam be, amelyek lemezein a kifejlődött telepek száma 10 és 300 közé esett. A hőkezelést túlélő sejtek számát az értékelhető lemezeken megszámlált telepszámok súlyozott átlagaként adtam meg a hígítási fok figyelembe vételével az alábbi képlet alapján:

$$\bar{c} = \frac{\sum c}{(n_1 + 0.1n_2)Vd}$$

ahol:

\bar{c} = a telepszám súlyozott középértéke

$\sum c$ = a számításba bevont valamennyi lemez telepeinek összege

n_1 = az első kiértékelhető hígítási fokhoz tartozó lemezek száma

n_2 = a második kiértékelhető hígítási fokhoz tartozó lemezek száma

d = az első kiértékelt hígítási szint hígítási foka

V = a lemezekre vitt kultúra mennyisége

3.3.5. PCR (*Polymerase Chain Reaction*) vizsgálatok

A hőkezelések során vett mintavételek mindegyikéből PCR vizsgálatokat is végeztem annak igazolására, hogy a szelektív és elektív táptalajokkal végzett tenyésztések eredményei valóban a kezdetben jelen lévő populáció túlélő sejtjeit jelentették. Ennek során a mintavételek alkalmával 1,5 cm³-es steril PCR csőbe is gyűjtöttem mintákat.

A felhasznált DNS izolálási módszerek a következők voltak:

Listeria monocytogenes NCAIM B.01373^T hőkezelt mintáiból, illetve *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T modell közegben hőkezelt mintáiból EtNA módszerrel vontam ki a DNS-t. 100µl mintához 455µl EtNa oldatot mértem (240 mM NaOH; 2,25 mM EDTA; 61% Ethanol), majd alapos keverés után 80 °C-on 10 percig inkubáltam. Az elegy lehűtését követően 10 percig 16.000 g-vel centrifugáltam, így a kicsapódott DNS a cső aljára ült. A felülúszó eltávolítása után a DNS-t 200µl EtNa-Chelex oldatban (0,1mM EDTA; 50mM Tris-HCl, pH8.0; 1% Triton-X-100; 0,5% Tween-20, 10% Chelex-100) vettem fel. A bemérés előtt 10.000 g-vel 2 percig centrifugáltam. A felülúszóból 1 µl-t használtam a későbbi PCR reakcióhoz. (Vingataramin és Frost, 2015). *Listeria monocytogenes* irodalmi adatokból kiindulva (Quero et al. 2014) a haemolysin gén kimutatásával detektáltam.

Staphylococcus aureus ATCC 25923 esetében Chelex-100 módszert alkalmaztam. Ennek során 100µl mintát 6000g-vel 6 percig centrifugáltam, majd a pelletre 200µl 100%-os Chelex-100-at (Chelex®

100 Resin, Bio-Rad, kat sz.: 1432832) mértem. Összevortexelést követően a mintát 100 °C-on 10 percig rázattam 1000 1/perc sebességgel, így a baktérium sejtekből a DNS az oldatba került. Ezt követően 10.000g-vel 2 percig centrifugáltam. A felülúszóból 1 µl-t használtam a későbbi PCR reakcióhoz. (Walsh et al. 1991). A *Staphylococcus aureus* esetében irodalmi adatok (William et al. 2001) és adatbázisok segítségével a ClfA génre terveztem a primereket a kimutatáshoz.

A *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T zöldségben hőkezelt mintáiból EtNa-cf módszerrel nyertem ki a DNS-t. Ennek során 100 µl mintát 6000 g-vel 6 percig centrifugáltam, majd a pelletre 100 µl PBS-t és 455µl EtNa oldatot mértem. Alapos keverést követően 80 °C-on 10 percig inkubáltam. Az elegy lehűtését követően 10 percig 16.000 g-vel centrifugáltam, így a kicsapódott DNS a cső aljára ült. A felülúszó eltávolítása után a DNS-t 200 µl EtNa-Chelex oldatban vettem fel. A bemérés előtt 10.000 g-vel 2 percig centrifugáltam, majd a PCR-hez 1 µl-t vettem ki. A módszer azért került kipróbálásra, mert bizonyos esetekben a PCR reakciót zavaró mátrix-felülúszó eltávolításával szebb real-time PCR eredmény érhető el. A *Zygosaccharomyces bailii* detektálását irodalmi adatokból kiindulva (Rawsthorne és Phister, 2006) 26 S RNS kódoló szekvencia alapján végeztem.

A kivont DNS mennyiségének és minőségének megítélésére a vizsgált mikrobára specifikus qPCR-t (quantitative Polymerase Chain Reaction) használtam. Az alacsonyabb C_q érték jobb hatékonyságú és/vagy tisztább DNS izolálást tükröz.

Az amplifikálási reakciót 10 µl-ben végeztem SensiFAST™ SYBR® No-ROX Kittel (BIO-98002) a gyártó által javasolt módon. Minden

reakcióba 500 nM forward és reverz primert, 2 µl dH₂O-t, valamint a DNS-t tartalmazó felülúszóból 1 µl-t tettem. A reakció 200 µl-es un. low-profil PCR-stippekben (Thermo, AB-1771) zajlott. A futtatást a Thermo PikoReal 24 készüléken a 8. táblázatban közölt program szerint végeztem. A fluoreszcens jel detektálását a 3. lépés végén az interkaláló DNA festék (SYBR Green) hullámhosszán, 530 nm-en végeztem. Negatív kontrollként desztillált vizet alkalmaztam, amely egyben a DNS izolálás közegét is képezte (a 10%-os chelex oldat deszt. vízzel készült). Pozitív kontrollként pedig a vizsgált mikroorganizmus tiszta tenyészetének kivont DNS-ét használtam.

8. táblázat: Az alkalmazott qPCR futtatási profil

Ciklus neve	Futtatási paraméterek
Denaturálás és enzim aktiválás	95 °C 2 perc
Denaturálás	95 °C 7 mp
Primer annellálás és extenzió (detektálás)	60 °C* 30 mp
Tm calling előkészítés	60 °C 15 mp
Tm calling	60 °C-ról 95 °C-ra folyamatos fűtés 1 másodperces szünetekkel 0,3 °C-onként.
Hűtés	20 °C 10''

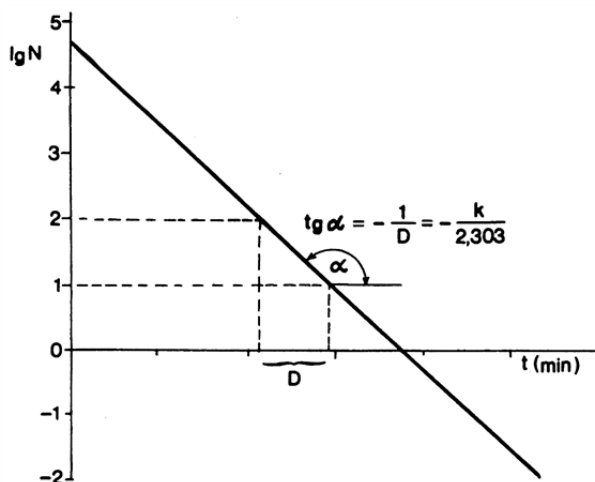
**Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T esetében a primer annellálási hőmérséklet 61 °C

3.3.6. A hőpusztulási paraméterek meghatározása

Néhány fokkal a szaporodási hőmérséklet felett a mikrobacejtek károsodnak. A sejtek ezt még túlélhetik, ha módjuk van a sérülést helyrehozni, kijavítani. Nagyobb hőmérsékleten, vagy hosszabb idő után

feltétlenül bekövetkezik a pusztulás. A vizsgálatok többségének eredményei szerint a sejtpopulációk pusztulásának időbeli lefolyása exponenciális jellegű és kinetikailag – az egysejtű mikroorganizmusok szaporodásához hasonlóan – az elsőrendű kémiai reakciók analógiájára írható le. (URL²)

A túlélő sejtek számának (N) változása a t idő alatt arányos a mindenkori sejtszámmal, ahol a k arányossági tényező a pusztulási sebességi együttható (mértékegysége min⁻¹). (URL²)



1. ábra: Túlélési görbe. (URL²)

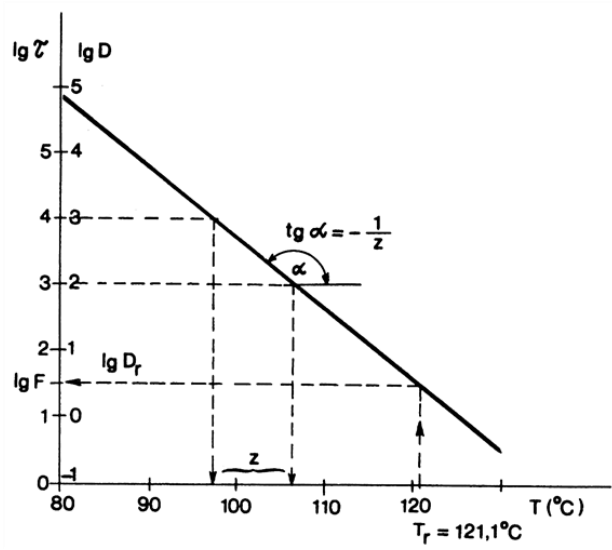
Túlélő sejtek száma (vagy koncentrációja): N; idő: t; tizedelődési idő: D;
pusztulási sebességi együttható: k

A túlélő sejtek logaritmusát az idő függvényében ábrázolva a túlélési görbéhez jutunk, amelynek iránytangenséből a tizedelési idő számítható. A tizedelési idő („D”) a mikrobapopuláció ellenállásának (hőtűrésének) percekben kifejezett mértéke, független a kezdeti sejtszámtól. A tizedelési idő azonban csak akkor egyértelmű, ha megadjuk azt a

hőmérsékletet is, amelyre vonatkozik (például: $D_{65} = 5$ min, a tizedelési idő $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on). (URL²)

A lineáris túlélési görbe (1. ábra) szerint minden D időtartam alatt a sejtek 90%-a pusztul el, $2D$ alatt 99,9%, $3D$ alatt 99,99%, stb.

A hőpusztulási görbe a különböző hőmérsékletekhez tartozó többségi pusztulási idők logaritmusait ábrázolja (2. ábra)



2. ábra: A hőpusztulási görbe és a z -érték összefüggése. (URL²)

Pusztulási idő: τ ; tizedelőési idő: D ; referencia-hőmérséklet: T_r ;

hőkezelési egyenérték: F

A görbe meredekségére jellemző z -érték, az a hőmérsékletnövekedés ($^{\circ}\text{C}$ -ban), amely az előírt pusztulási arányhoz tartozó hőpusztulási időt pontosan 1 nagyságrenddel csökkenti. A z -érték tehát a hőpusztulási idő hőmérsékletfüggését jelzi, és nem más, mint a hőpusztulási görbe iránytangensének negatív reciproka. A hőpusztulási görbével párhuzamos görbét szerkeszthettem a tizedelési időkkel is. Mivel a tizedelési idő a

mikroorganizmus hőrezisztenciájának mértéke, ezt a görbét *hőrezisztencia görbének* nevezzük. (URL²)

A tizedelési idő és a z-érték számítását minden esetben „Integrated Pathogen Modeling Program” (IPMP 2013) szoftver segítségével a lineáris túlélési modellt használva ellenőriztem.

A hőmérsékleti együttható Q_{10} : a hőpusztulási görbe meredekségéből fejezhető ki:

$$\tan \alpha = -\frac{1}{z} = \frac{\log Q_{10}}{10}$$

$$Q_{10} = 10^{\frac{10}{z}}$$

A relatív pusztulási sebesség, RPS: A relatív pusztulási sebesség kiszámításánál a T hőmérsékleten szükséges pusztulási időt a P-érték tört részeként fejezhető ki:

$$RPS = \frac{P}{t} = 10^{\frac{T-T_{ref}}{z}}$$

ahol

RPS= relatív pusztulási sebesség

T= geometriai középpont hőmérséklete

T_{ref} = referencia hőmérséklet (70 °C)

A relatív pusztulási idő, RPI: a relatív pusztulási sebesség reciprokaként fejezhető ki:

$$RPI = \frac{1}{RPS}$$

3.3.7. *A kiértékelésben alkalmazott statisztikai módszerek*

A légekőri és a vákuum csomagolt minták hőkezelése során a túlélő sejtek számait regresszióval, illetve t-próbával hasonlítottam össze. A statisztikai elemzéseket és az eredmények ábrázolását Microsoft Office Excel 2010® szoftver segítségével végeztem. Ennek során arra kerestem a választ, hogy az alkalmazott sous-vide technológia okoz-e szignifikáns különbséget a minták hőkezelése során a túlélősejtek tekintetében, másképpen: adott modell közegben, illetve élelmiszer-mátrixban van-e szignifikáns hatása a sous-vide technológiának a *Staphylococcus*, *Listeria* és *Zygosaccharomyces* sejtek hópesztulásra?

A kérdések megválaszolására és a sejtszámok összehasonlítására a következő hipotéziseket állítottam fel:

Null hipotézis: A hőkezelés csírapsztító hatása megegyező mértékű azonos hõntartási idők mellett a légekőri és a vákuum csomagolt mintákban.

Alternatív hipotézis: A hőkezelés csírapsztító hatása a vákuum csomagolt mintákban nagyobb mértékű azonos hõntartási idõtartamok mellett, mint a légekőri mintákban.

Az élõsejt számok mintaátlagai és szórásai is eltérõek, ezért számításokat végeztem, hogy a psztulás mértéke ténylegesen nagyobb mértékű-e a vákuum csomagolás hatására minden kezelési hõmérsékleten.

Két kérdést vizsgáltam:

A két szórás eltérése csak a véletlen mûve?

A két átlag eltérése szignifikánsan különbözik-e?

A két független (légekőri és a vákuum csomagolt) normális eloszlású alapsokaságból származó minták szórásnak az egyezését F próbával, a

normális eloszlású sokságok várható értékeinek egyezését pedig t-próbával döntöttem el.

3.3.8. Tárolási kísérletek

A sous-vide technológiával előállított termékek elsődleges követelménye az előállított termékre jellemző, maximális élvezetet nyújtó organoleptikus tulajdonságok megmaradása a felhasználás végéig. Ennek érdekében alkalmazott enyhe hőkezelés fordított arányban áll az élelmiszer biztonsággal. Jóllehet ezt a technológia megalkotása során is tapasztalták, ezért alkalmaznak olyan kiegészítő tartósító eljárásokat, mint a speciális antimikróbás fűszerezés, vagy a sokkolás. Teljes biztonsággal azonban csak mikrobiológiai vizsgálatok elvégzésével támasztható alá a sous-vide technológiával előállított termék megfelelő higiéniai állapota. A tárolási kísérlet első lépéseként a legintenzívebb csírapusztítást okozó hőfok-hőntartás kombinációkat alkalmazva a kísérleteimkben is használt hús, illetve zöldség mix mintákat hőkezelttem. 100 grammnyi mennyiségeket hőálló polietilén tasakokba helyeztem, melyeket lehegesztve képeztem a kontroll mintákat. Másik felét 99%-os légritkítás mellett vákuumcsomagoltam. A két mintaféleség hőkezelését a modellezésnél is használt cirkulációs hőntartóban, hőfokonként eltérő behatási idővel egyszerre végeztem. Céлом az volt, hogy a sous-vide termékek esetében is elfogadott 2 hónapos tárolási idő alatt felmérjem azok mikrobiológiai-higiéniai megfeleléségét. A 2073/2005 EK rendelet, valamint a szigorúbb hazai 4/1998-as higiéniai rendelet belső minőségellenőrzést szolgáló segédletének 1. „nyershús, hústermékek”, valamint 22-es „készételekre” vonatkozó rendelkezéseit alapul véve a

nulladik napon, illetve 1 és 2 hónapos tárolást követően a 9. táblázatban feltüntetett mikroorganizmusokat határoztam meg. Ennek során a hőkezelt mintákat 4 ± 1 °C-on tárolva a vizsgálati időpontokban egy csomagolási egységet kivéve a 9. táblázatban közölt klasszikus, szabvány tenyésztési mikrobiológiai módszereket alkalmazva 4 ismétlésben végeztem a kimutatásokat.

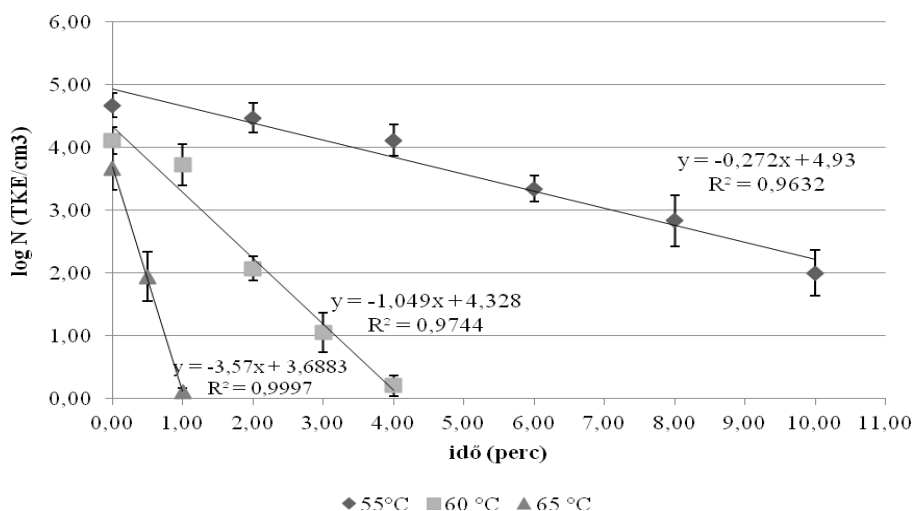
9. táblázat: A tárolási minták esetében alkalmazott akkreditált mikrobiológiai vizsgálati módszerek

Vizsgálati irány	Alkalmazott módszer
<i>Salmonella sp.</i>	MSZ EN ISO 6579:2006
<i>Listeria monocytogenes</i>	MSZ EN ISO 11290:1996/A1:2005
<i>Clostridium perfringens</i>	MSZ EN ISO 7937:2005
<i>Escherichia coli</i>	MSZ ISO 16649-2:2005
<i>Enterococcus faecalis</i>	ASU L 06.00-32:1992-06
<i>Staphylococcus aureus</i>	ASU L 00.00-55:2000
Penészgomba-szám	MSZ EN ISO 7954:1999
Aerob mezofil csiraszám	ASU L 06.00-18:1984-05

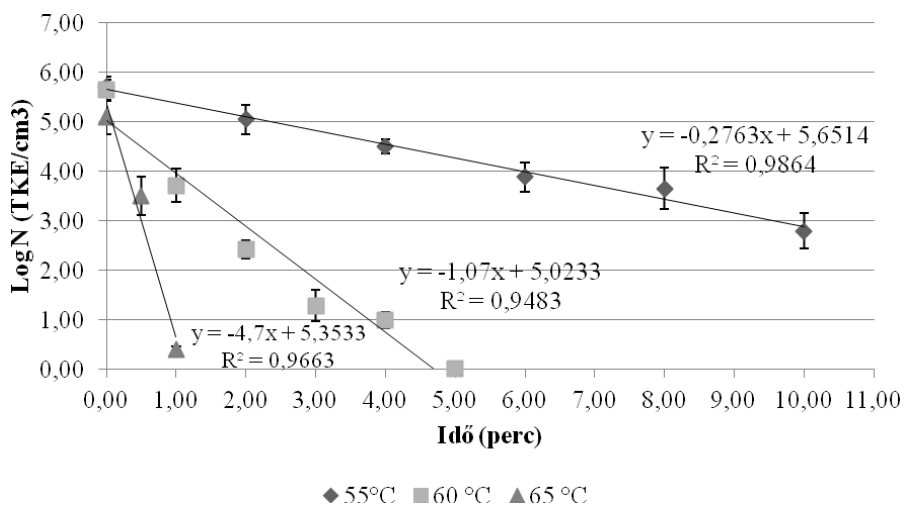
4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

4.1. *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T hőpusztulása modell közegben

A *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T típusörzs modell tápközegének előkészítését és hőkezelését a 3.3.1. fejezetben leírtak szerint végeztem. A mintákból meghatározott élősejt-számok logaritmikus transzformációját elvégeztem és azokat az idő függvényében ábrázoltam (3-4. ábrák).



3. ábra: A *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T túlélő sejtjeinek száma modell közegben végzett hőkezelés során



4. ábra: A *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T túlélő sejtjeinek száma modell közegben vákuumcsomagolásban végzett hőkezelés során

A modell közegben végzett hőkezelések esetében a hőközlésből származó jobb entalpiaviszonyok következtében a *Listeria* szám csökkenése gyorsabb volt a mátrix közegéhez viszonyítva. 10 percig tartó 55 °C-os hőkezelés esetében több mint két és fél (log 2,67 CFU/cm³), míg 60 és 65 °C-on közel négy, illetve három és fél nagyságrendnyi (log 4,11 CFU/cm³ és log 3,67 CFU/cm³) csökkenést mutattam ki. Utóbbi két esetben a hőkezelés az öt, illetve egy perces folyamat végére a sejtszámot a kimutathatósági határ alá redukálta (1. melléklet).

A vákuumcsomagolt minták hőkezelése során 55 °C-on 10 perc elteltével közel három (log 2,91 CFU/cm³), míg 60 és 65 °C-on öt nagyságrendet meghaladó (log 5,63 CFU/cm³ és log 5,1 CFU/cm³) csökkenést jelentettek az öt és egy perces hőkezelések, így az utóbbi két esetben a

hőkezelés végére a tápközeg már nem tartalmazta kimutatható mennyiségben a keresett mikroorganizmust.

A túlélő sejtszám értékek képezték a 3.3.6. fejezetben ismertetett hőpusztulási paraméterek meghatározásának alapját amelyeket a 10. táblázatban foglaltam össze.

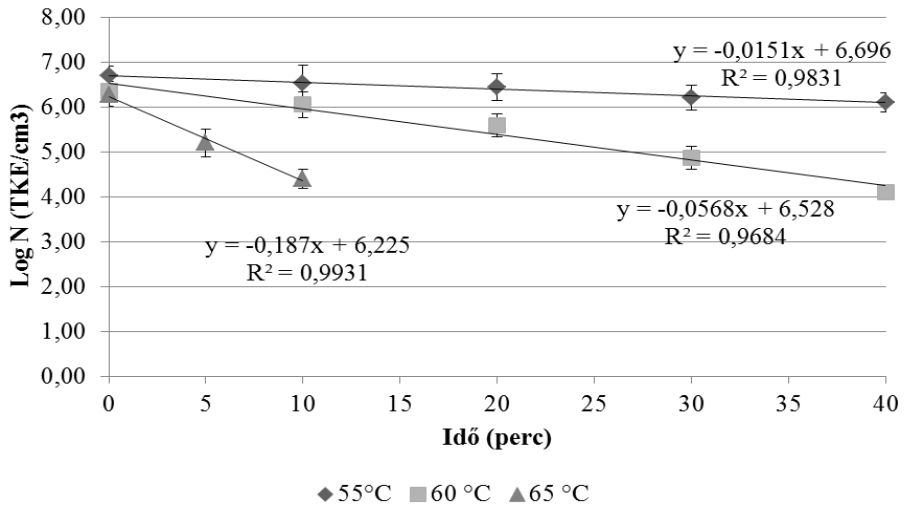
10. táblázat: A *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T modell tápközegben végzett hőkezelésének eredményei

(°C)	k (1/perc)	D (perc)	RPS (1/perc)	RPI (perc)	Q ₁₀	Z érték (°C)
<i>Légköri nyomáson csomagolt minták</i>						
55	-0,63	3,68	5,98E-09	1,67E+08	17,54	8,04
60	-2,42	0,95	2,50E-08	4,00E+07		
65	-8,22	0,28	1,05E-07	9,54E+06		
<i>Vákuumsomagolt minták</i>						
55	-0,64	3,62	5,12E-09	1,95E+08	17,96	7,97
60	-2,46	0,93	2,17E-08	4,61E+07		
65	-10,82	0,21	9,19E-08	1,09E+07		

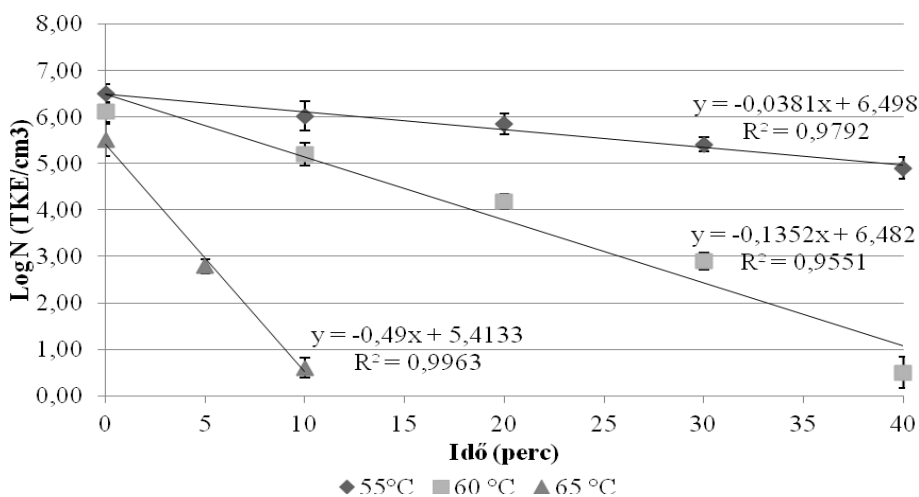
A szakirodalomban fellelhető adatokkal összehasonlítva eredményeim megegyeznek Casadei et al. (1998) adataival, akik az általam is alkalmazott Caso (TSB) levesben hőkezelve *Listeria monocytogenes*-t 56 °C-on 3,8, 60 °C-on 0,83 és 64 °C-on hőkezelve 0,2 perc tizedelési időt mértek. Számított z-értékeik (7,05 – 7,97), szintén az általam meghatározott tartományba estek.

4.2. *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T hőpusztulása hús mátrixban

Ugyan ezen törzzsel élelmiszer mátrixban (sertéshús) elvégzett hőkezeléseket a 3.3.1. fejezetekben ismertettem, melynek eredményeivel hasonlóan számításokat végeztem. A sejtszámok logaritmusait az idő függvényében ábrázolva az 5-6. ábrákon feltüntetett pusztulási görbéket kaptam.



5. ábra: A *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T túlélő sejtszámja sertéshúsban hőkezelve.



6. ábra: A *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T túlélő sejtjeinek száma vákuumcsomagolt sertéshúsban hőkezelve.

A húsféleségek konyhatechnikában végzett hőkezelésének célja a nyers fehérjék emészthetőségének javítása. A modell közegben végzett kezelések alkalmával olyan hőfokot választottam, amely a sous-vide technológiában általánosan alkalmazott. Az alkalmazott hőfokokon azonban tekintettel kell lenni arra, hogy a fizikai hőhatásokon túl kémiai hatás is éri a húst a hőkezelés során. A szarkoplazmafehérjék és a miofibrilláris fehérjék kicsapódnak, koagulálnak a hőre, és így alakul ki a főtt hús jellegzetes szerkezete. Az átalakulás során a mikrobák szempontjából számos kedvező tényező érvényesül. Ilyen a húsok fehérje- és zsírtartalmából eredő védő hatás, és a sokfehérjék képződése, amely alapvetően a fehérjék hőhatásra történő negyedleges szerkezetében bekövetkező kedvezőtlen változások kijavítását szolgálja. Mindezen okok vezetnek a mátrixban tapasztalható lassúbb hőpusztuláshoz. Az

általam vizsgált sertéshús mátrixban ez annyit jelentett, hogy 55 °C-on alig több mint fél ($\log 0,6 \text{ CFU/cm}^3$) de 60 °C-on is csupán kevéssel több, mint kettő ($\log 2,25 \text{ CFU/cm}^3$) nagyságrendnyi *Listeria* szám csökkenést értem el 40 percnyi hőkezelést követően. Egyedül 65 °C-on kaptam több mint hat ($\log 6,27 \text{ CFU/cm}^3$) nagyságrendnyi csökkenést, amely a kezdeti sejtszámot 10 perc elteltével gyakorlatilag nullára redukálta. A vákuumcsomagolás szignifikánsan ($p < 0,05$) gyorsította (19. táblázat és 2. melléklet) a *Listeria monocytogenes* hőpusztulását hiszen 55 és 60 °C-on a légköri mintákhoz képest a sejtszám redukcióban több mint kétszeres különbséget kaptam ($\log 1,60$, illetve $\log 5,61 \text{ CFU/cm}^3$). A növekmény egyedül 65 °C-on nem volt szignifikáns (19. táblázat), jóllehet a közel öt nagyságrendnyi ($\log 4,90 \text{ CFU/cm}^3$) csökkenést a magasabb hőfokra történő melegítés következtében elért alacsonyabb kiindulási sejtszám mellett tapasztaltam.

Mindkét kezeléssorban a pusztulási görbe lineáris szakaszára illesztett egyenesek egyenletéből meghatároztam a 11. táblázatban feltüntetett pusztulási paramétereket. A D-értékek tekintetében eredményeim megegyeznek Anon (2000), Brennan et. al (1990), illetve Heldman és Hartel (1997) eredményeivel, akik hús mátrixban 60 °C-on maximálisan $D_{60}=16,7$ min értéket határoztak meg. Bolton et al. (2000) viszont darált húst vízfürdőben, vákuumcsomagolásban hőkezelve az általam mért értékeknél alacsonyabb, 55 °C-on 3,2 – 3,4, 60 °C-on pedig 0,15 – 0,31 perc tizedelési időket mértek. Murphy et al. (2002) *Listeria innocua*-t csirke húsban hőkezelve 55 °C-on 56,169, míg 60 °C-on 7,362 D értéket határoztak meg, melyek közül az előbbi a légköri nyomáson mért, utóbbi pedig a vákuumcsomagolt mintáim eredményeihez hasonló.

11. táblázat: A *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T sertéshúsban végzett hőkezelésének eredményei

(°C)	k (1/min)	D érték	RPS (1/min)	RPI (min)	Q ₁₀	Z érték (°C)
<i>Légköri nyomáson csomagolt minták</i>						
55	-0,01	66,23	3,69E-08	2,71E+07	13,32	8,89
60	-0,02	17,61	1,35E-07	7,43E+06		
65	-0,08	5,35	4,91E-07	2,04E+06		
<i>Vákuumsomagolt minták</i>						
55	-0,02	26,25	1,39E-08	7,19E+07	15,44	8,41
60	-0,06	7,40	5,47E-08	1,83E+07		
65	-0,21	2,04	2,15E-07	4,66E+06		

Hasonlót publikáltak Gaze et al. (1989), akik marhahúsban 60 °C-on 8,32 perc tizedelési időt mértek. Az általam kalkulált z-értékhez hasonlózt közölt Leasor és Foegeding (1988), akik *Listeria monocytogenes* esetében 9,0 °C-os z-értéket mértek.

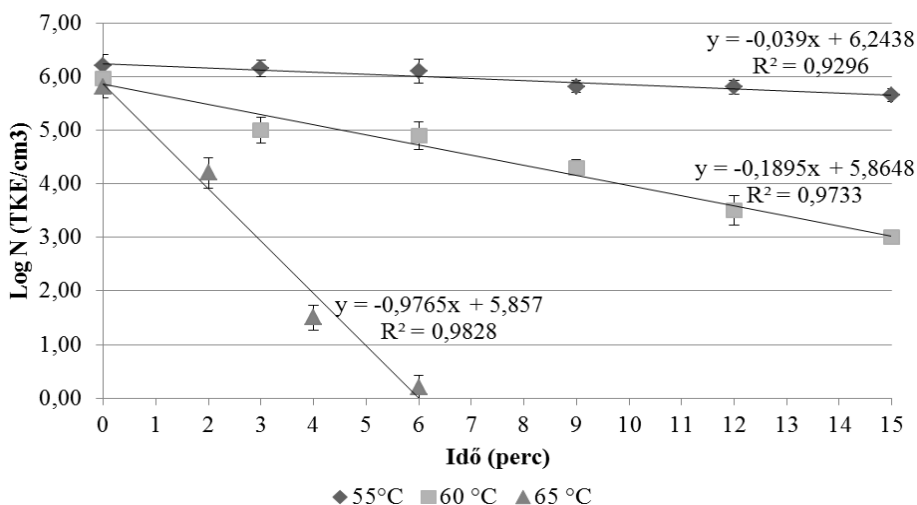
A 3.3.5. fejezetben leírt qPCR metodikának eredményeként kimutattam a hőkezelésekből származó mintákban a *Listeria monocytogenes* össz DNS mennyiségét (12. táblázat). A kapott adatokból arra próbáltam következtetni, hogy a hőkezelések hatására, változik-e a *Listeria* össz DNS-ének mennyisége. Emellett annak alátámasztására is szolgált, hogy az egy sorozatban szereplő (azonos mikroba, azonos mátrix, azonos kezelés) minták DNS tartalma – vagyis a mikrobák száma egységnyi térfogatban – egyenlő, és a tenyésztés során kapott eltérések, különbségek az élő és élettelen mikrobák arányából adódik.

12. táblázat: A *Listeria monocytogenes* össz DNS mennyiségének változása a hőkezelések során.

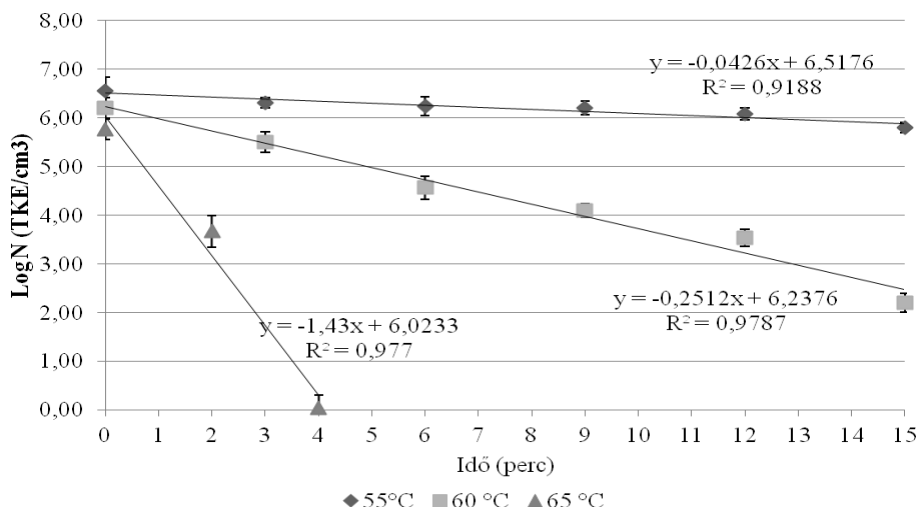
	Táplévesben hőkezelve			Sertéshúsban hőkezelve	
	Légköri csomagolás	Vákuum-csomagolás		Légköri csomagolás	Vákuum-csomagolás
55 °C			55 °C		
Hőkezelés ideje (perc)	Cq érték	Cq érték	Hőkezelés ideje (perc)	Cq érték	Cq érték
0	19,47	19,45	0	20,36	19,34
2	19,78	19,23	10	20,64	20,21
4	19,08	18,58	20	20,51	20,05
6	19,32	19,18	30	20,37	19,03
8	19,36	19,77	40	20,4	19,23
10	19,36	19,51	-	-	-
60 °C			60 °C		
0	19,48	19,98	0	20,05	20,96
1	19,00	19,16	10	19,81	19,35
2	19,29	18,82	20	19,95	20,34
3	19,36	19,25	30	20,23	19,20
4	19,56	19,48	40	19,31	19,73
5		19,94	-	-	-
65 °C			65 °C		
0	19,61	18,96	0	19,92	19,07
0,5	19,33	18,15	5	20,20	19,38
1	19,46	19,90	10	19,16	20,96
2		-	20	19,84	-
poz. kontr.	19,27	19,33	poz. kontr.	20,26	19,58
neg. kontr	-	-	neg. kontr	-	-

4.3. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 hőpusztulása modell közegben

A *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 törzssel a 3.3.2. és 3.3.4. fejezetekben ismertetett módon modell közegben (Caso leves) elvégzett hőkezelések sejtszám eredményeit az idő függvényében ábrázoltam, majd lineáris szakaszokra a 7-8. ábrákon feltüntetett egyeneseket illesztettem.



7. ábra: A *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 túlélő sejtszámának száma modell közegben végzett hőkezelés során



8. ábra: A *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 túlélő sejtjeinek száma modell közegben, vákuumcsomagolásban hőkezelve

A gram pozitív *Staphylococcus aureus* előkísérleteimben tapasztalt nagyobb hőtürése a kezelések alkalmával is megmutatkozott. 55 °C-on alig több mint fél nagyságrendnyi pusztulást tapasztaltam (log 0,55 CFU/cm³). Negyed órás hőkezelést követően, amelyet a vákuumcsomagolás szignifikánsan (19. táblázat; p<0,05) javított, jöllehet ez utóbbi csupán 0,2 tizednyi növekményt eredményezett. Az ilyen közepes z-értékű mikroorganizmusok esetében ez is elegendő a technológia javító hatásának igazolására. 60 °C-on a légtörő mintáknál közel három (log 2,96 CFU/cm³), míg vákuumcsomagolásban egy nagyságrenddel nagyobb (log 4,00 CFU/cm³) sejtszámredukciót mértem 15 perc elteltével (3. melléklet). A 65 °C-on végzett kezelések mikrobapusztító hatása mindkét mintasorozatnál meghaladta az öt és fél nagyságrendet (légtörő: log 5,61 CFU/cm³, vákuumcsomagolt: log 5,72

CFU/cm³). Jóllehet ezt a légköri mintáknál 6., míg a vákuumcsomagolás hatására a 4. percben értem el. Hasonlóan a 60 °C-os eredményeknél, itt sem kaptam szignifikáns különbséget (19. táblázat). Mindebben szerepet játszhat az is, hogy Dilella és Sobota (1980) szerint a baktériumok pusztulásához elegendő DNS, RNS és citoplazma károsodás csak 62 °C-on következik be.

A hőpusztulási görbékre illesztett egyenesek egyenletéből a 3.3.6. fejezetben ismertetett számítási menetekkel meghatároztam a törzsre jellemző pusztulási paramétereket modell közegben, amelyeket a 13. táblázatban foglaltam össze.

13. táblázat: A *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 modell közegben végzett hőkezelésének eredményei

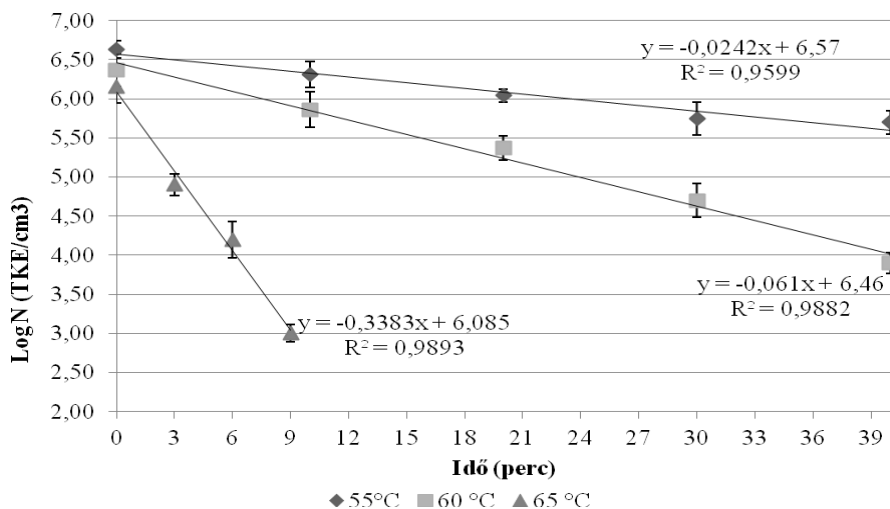
(°C)	k (1/min)	D érték	RPS (1/min)	RPI (min)	Q ₁₀	Z érték (°C)
<i>Légköri nyomáson csomagolt minták</i>						
55	-0,02	25,67	3,70E-10	2,70E+09	26,72	7,01
60	-0,08	5,28	1,91E-09	5,23E+08		
65	-0,42	1,02	9,89E-09	1,01E+08		
<i>Vákuumcsomagolt minták</i>						
55	-0,02	23,49	4,85E-11	2,06E+10	36,35	6,41
60	-0,11	3,98	2,92E-10	3,42E+09		
65	-0,62	0,70	1,76E-09	5,68E+08		

A modell közegben végzett pusztulási paraméterek meghatározásánál eredményeim analógiát mutattak Kennedi et mtsai. (2005) eredményeivel, akik a túlélő sejteket az általam is alkalmazott BP, valamint TSA agaron szaporítva 55 °C-on 13,0 – 21,7 perces, 60 °C-on

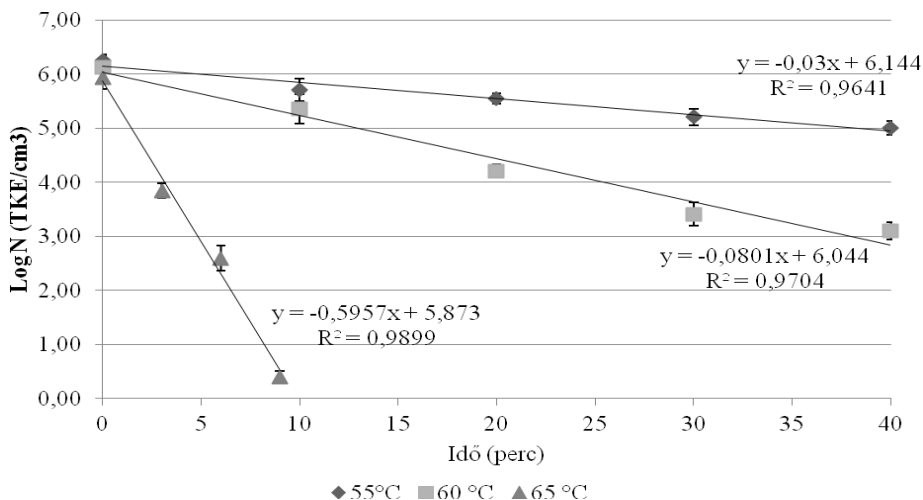
pedig 4,80 – 6,50 percnyi D-értéket határoztak meg attól függően, hogy azt a k-értékből, vagy a pusztulási görbék meredeksége alapján számították. Shafiei et al. (2011) viszont az általam kapott értékeknél nagyobb – 55 °C-on 32,5, 65 °C-on pedig 7,5 perc – tizedelési időt határoztak meg *Staphylococcus aureus* hőpusztulását desztillált vízben vizsgálva.

4.4. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 hőpusztulása hús mátrixban

A sous-vide technológiát modellezve kísérleteimet a *Listeria*-hoz hasonló módon mesterségesen befertőzött hús mátrixban is elvégeztem. Ennek során a túlélő sejteket az idő függvényében ábrázolva a pusztulási görbék 9-10. ábrákon feltüntetett lineáris szakaszait kaptam.



9. ábra: A *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 túlélő sejtszáma sertéshúsban hőkezelve



10. ábra: A *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 túlélő sejtjeinek száma vákuumsomagolt sertéshúsban hőkezelve

A sertéshús mátrixban végzett hőpusztulási paraméterek meghatározását ebben a kísérletsorban is a sous-vide technológia jellemző hőfokain végeztem. Az általam választott sertés comb közel 75% vizet, 20% fehérjét, 5% zsírt tartalmaz. A fehérje összetételét tekintve 50-55% miofibrilláris fehérje (aktin, miozin) alkotja, amelyek a hőkezelések alkalmával kicsapódnak. Mindezek mellett 30-34% szarkoplazmafehérje és 10- 15% kötőszöveti fehérje is található benne. A hőkezeléseim során tapasztalt izomsugorodás 35-40 °C közelében indul meg és ez a folyamat 80 °C-ig folyamatosan megy végbe. A szarkoplazma fehérjék gélesedése 40-60 °C közt történik, míg a kötőszöveti fehérjék 60-65 fokon válnak oldhatóvá. Mindezek mellett a mikrobák hőpusztulásának csökkentésében szerepet játszik a kollagén hő hatására bekövetkező

ellentétes változása. Az általam is vizsgált 60 °C-on zsugorodni kezd és „A”-típusú kollagénból „B”-típusú lesz. A „B”-típusú további hőkezelésre vizet vesz fel, megduzzad és zselatinná alakul. Mindezek alapján értelmezhetjük azt, hogy míg a légköri mintáknál 55 °C-on hőkezelve a táplevesben végzett hőkezelésekhez képest fél nagyságrendnyi a növekmény (log 0,93 CFU/cm³), addig 60 °C-on hőkezelve a kollagén változása miatt ugyanennyi csökkenés (log 2,47 CFU/cm³) jellemzi a *Staphylococcus aureus* 40 perces hőpusztulását a hús mátrixban. Vákuumsomagolás hatására a sejtszám változás 55 °C-on 0,3 tizeddel, log 1,25 CFU/cm³-re nőtt, míg 60 °C már fél nagyságrendnyi különbséget jelentett az alkalmazott sous-vide technológia (légköri: log 2,47 CFU/cm³, vákuumsomagolt: log 3,03 CFU/cm³). 65 °C-on a hőpusztulás a kontroll mintáknál 3,15, míg a vákuumsomagolt mintákbanöt és fél nagyságrendnyi csökkenést jelentett a 9 perces hőkezelések alkalmával (légköri: log 3,15 CFU/cm³, vákuumsomagolt: log 5,54 CFU/cm³). Mindhárom kezelési hőfokon a különbségek szignifikánsak voltak (19. táblázat).

A telepszámlálások eredményeiből (4. melléklet) felvett pusztulási görbék alapján számított paramétereket a 14. táblázatban foglaltam össze.

14. táblázat: A *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 serteshúsban végzett hőkezelésének eredményei

(°C)	k (1/min)	D érték	RPS (1/min)	RPI (min)	Q ₁₀	Z érték (°C)
<i>Légköri nyomáson csomagolt minták</i>						
55	-0,01	41,32	1,61E-08	6,20E+07	15,10	8,48
60	-0,03	16,39	6,27E-08	1,59E+07		
65	-0,15	2,96	2,44E-07	4,10E+06		
<i>Vákuumsomagolt minták</i>						
55	-0,01	33,33	1,96E-09	5,11E+08	20,77	7,59
60	-0,03	12,48	8,92E-09	1,12E+08		
65	-0,26	1,68	4,06E-08	2,46E+07		

A D-értékek tekintetében Anon (2000), Brennan és mtsai. (1990), illetve Heldman és Hartel (1997) hús mátrixban 60 °C-on D₆₀=6 min értéket határoztak meg, amely az általam mért értéknél gyorsabb hőpusztulást jelent.

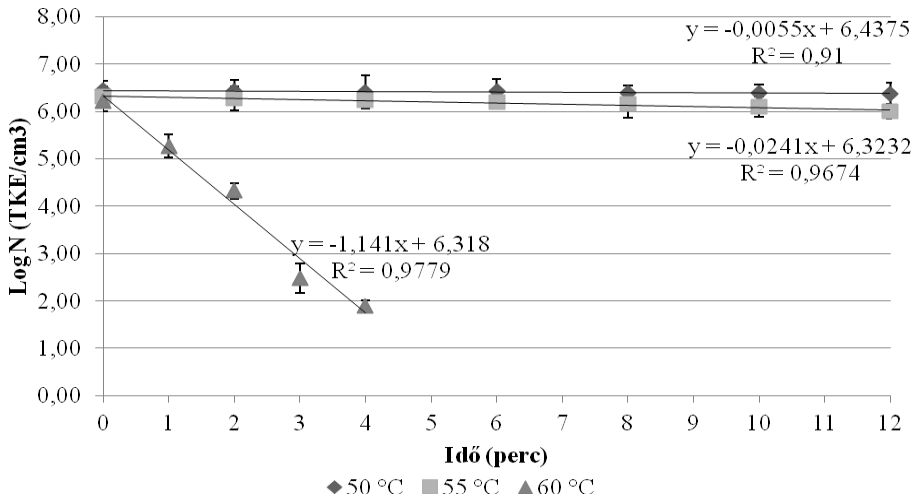
A *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 törzs esetében is szerettem volna igazolni, hogy a túlélési görbék alapját jelentő tenyésztések időbeni sejtszám csökkenése valóban a kezelések hatására bekövetkező hőpusztulás következménye, ezért a mintákból össz DNS meghatározást végeztem, melynek eredményét a 15. táblázatban foglaltam össze.

15. táblázat: A *Staphylococcus aureus* össz DNS mennyiségének változása a hőkezelések során.

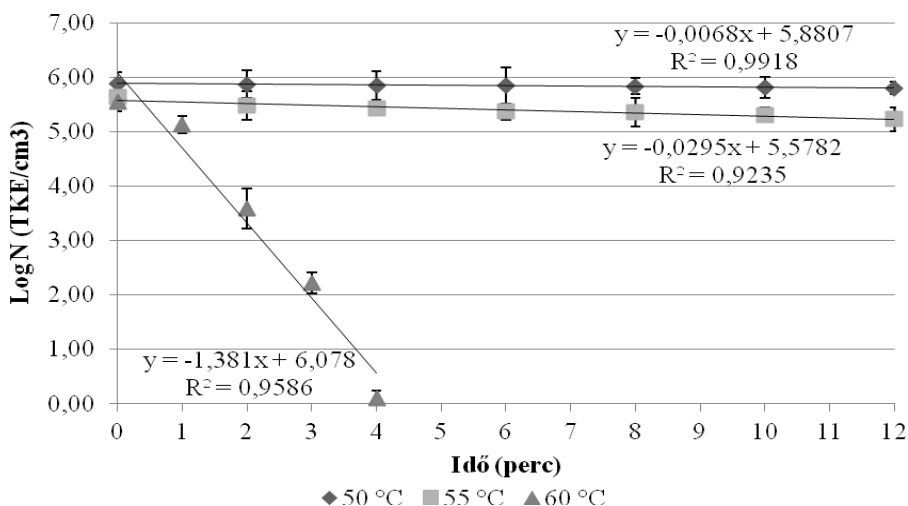
		Táplévesben hőkezelve				Sertéshúsban hőkezelve	
		Légköri csomagolás	Vákuum csomagolás			Légköri csomagolás	Vákuum csomagolás
55 °C			55 °C				
Hőkezelés ideje (perc)	Cq érték	Cq érték	Hőkezelés ideje (perc)	Cq érték	Cq érték		
0	19,14	18,63	0	25,36	24,69		
3	18,97	19,23	10	25,64	24,20		
6	19,40	19,39	20	25,51	24,29		
9	18,92	19,12	30	25,37	24,59		
12	18,85	19,10	40	26,36	25,00		
15	18,78	19,37	-	-	-		
60 °C			60 °C				
0	18,35	18,96	0	25,91	24,65		
3	18,23	18,40	10	25,70	24,20		
6	18,37	19,12	20	26,58	24,25		
9	18,25	19,15	30	26,86	23,91		
12	18,30	19,14	40	27,05	24,14		
15	18,55	19,46	-	-	-		
65 °C			65 °C				
0	18,48	18,38	0	23,49	24,09		
2	18,33	18,33	3	23,75	24,22		
4	18,34	17,98	6	26,31	24,08		
6	17,65	-	9	26,87	24,63		
poz. kontr.	20,72	20,34	poz. kontr.	21,91	21,76		
neg. Kontr	-	-	neg. Kontr	-	-		

4.5. *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T hőpusztulása modell közegben

A két baktérium mellett megvizsgáltam a *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T élesztőgomba sous-vide technológiában való hőpusztulását. Ennek első lépéseként az említett konyhatechnológia sejtpusztító hatását az élesztő optimális tápközegében (Malátakivonat leves) teszteltem, kontrolként a technológiában szereplő vákumsomagolás nélküli mintát alkalmazva. A 3.3.3. – 3.3.4. fejezetekben ismertetett módon elvégzett hőkezelések eredményeit ábrázolva a pusztulási görbéknek a 11-12. ábrákon feltüntetett lineáris szakaszait kaptam.



11. ábra: A *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T túlélő sejteinek száma modell közegben hőkezelve



12. ábra: A *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T túlélő sejtjeinek száma modell közegben vákuumsomagolásban hőkezelve

Az élesztőgombák, mint a *Zygosaccharomyces bailii* vegetatív sejtjei jellegükből adódóan alacsonyabb hőtűréssel jellemezhetők, mint a baktériumok. A hőkezeléseket ennek megfelelően alacsonyabb hőfokokon végeztem, igazodva az alkalmazott, többnyire vegetatív sejtek alkotta 48-72 órás tenyészetek sejtösszetételéhez (3.3.3. fejezet). Jóllehet a választott hőfoktartomány (50-60 °C) a modellezett sous-vide technológia kezelési minimumát jelenti, a vizsgált élesztőgomba előkísérletekben is tapasztalt hőérzékenysége megakadályozza hőpusztulásának magasabb hőmérsékleten végzett tanulmányozását. A malátakivonat levesben 50 és 55 °C-on 12 percig végzett hőkezelések vákuumsomagolása okozta szignifikáns különbségeinél (20. táblázat) megjegyzendő, hogy a kiindulási csíraszámok kismértékű csökkenése a mintaátlagok kis eltérése mellett is már szignifikáns különbségeket

eredményeznek. Ennek megfelelően a vákuumsomagolással elért sejtszám-csökkenés különbsége is minimális (légköri: $\log 0,07 \text{ CFU/cm}^3$, vákuumsomagolt: $\log 0,08 \text{ CFU/cm}^3$). $60 \text{ }^\circ\text{C}$ -on a szignifikáns különbség már kifejezettebb. Míg a légköri mintáknál $\log 4,30 \text{ CFU/cm}^3$, addig a vákuumsomagolásban közel öt és fél ($\log 5,45 \text{ CFU/cm}^3$) sejtszám-csökkenést mértem (5. melléklet).

A vizsgált baktérium törzseknél bemutatottakhoz hasonlóan, a 3.3.6. fejezetben bemutatott paramétereket itt is a pusztulási görbék lineáris szakaszára illesztett egyenesek adataiból számítottam (16. táblázat)

16. táblázat: A *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T modell közegben végzett hőkezelésének eredményei

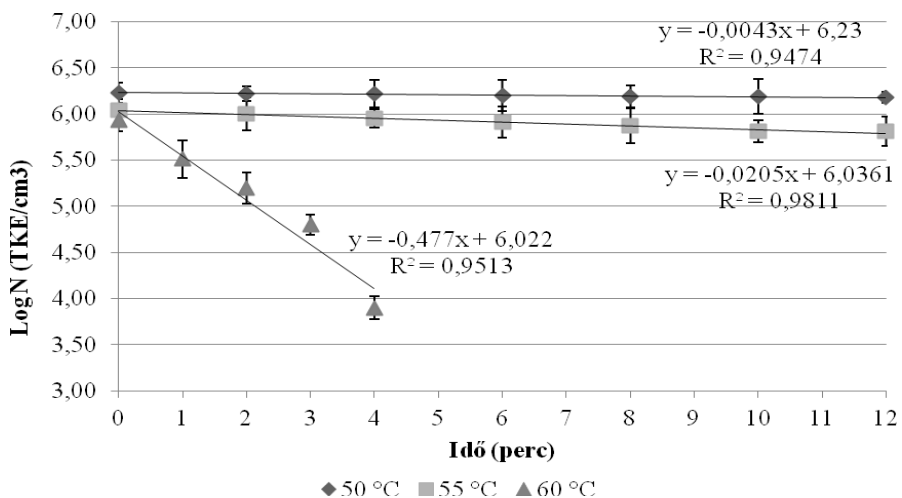
(°C)	k (1/min)	D érték	RPS (1/min)	RPI (min)	Q10	Z érték (°C)
<i>Légköri nyomáson csomagolt minták</i>						
50	-0,002	180,65	3,08E-17	3,24E+16	210,01	4,31
55	-0,010	41,48	4,47E-16	2,24E+15		
60	-0,495	0,88	6,47E-15	1,55E+14		
<i>Vákuumsomagolt minták</i>						
50	-0,003	147,37	4,87E-17	2,05E+16	196,91	4,36
55	-0,013	33,94	6,84E-16	1,46E+15		
60	-0,600	0,72	9,59E-15	1,04E+14		

A modell közegben számított paramétereim közül a D értékek megegyeznek Jermini és Schmidt-Lorenz (1987) eredményeivel, akik a *Zygosaccharomyces bailii* LMZ 108 aszkospórái esetében $60 \text{ }^\circ\text{C}$ -on 14,9 perc D-értéket mértek és a vegetatív sejtek pusztulásának idejét ehhez képest 1/20-1/50 ad részére aposztrofálták. Közölt eredményeimnél

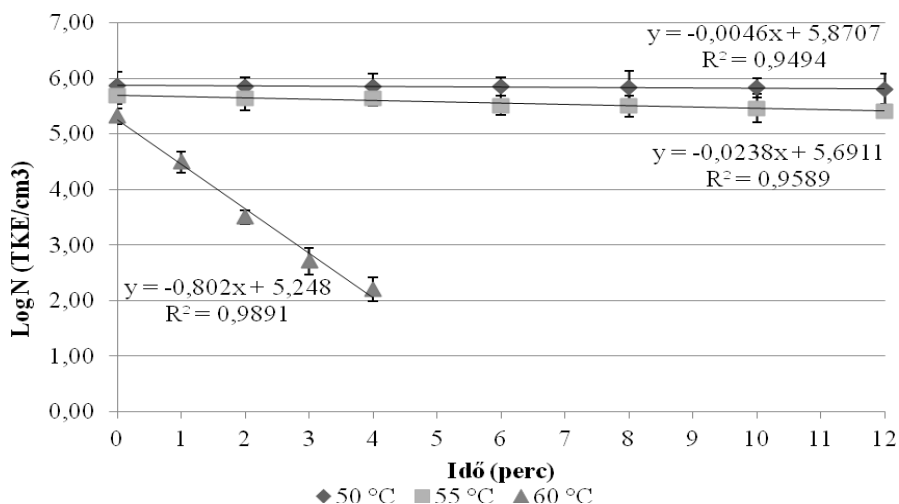
valamivel kisebb (0,1 perc) D-értéket kaptak Splittstoesser et al. (1986), akik szintén 60 °C-on foszfát pufferben hőkezelték ugyan ezen fajt.

4.6. *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T hőpusztulása zöldség mátrixban

Az élesztő élelmiszer mátrixban történő hőpusztulásának vizsgálatát a 3.3.6. fejezetben ismertetett módon a faj előfordulására jellemző zöldség mixben végeztem.



13. ábra: A *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T túlélő sejtjeinek száma zöldség mixben hőkezelve



14. ábra: A *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T túlélő sejtjeinek száma zöldség mixben, vákuumcsomagolásban hőkezelve

A rosttartalom miatt a zöldségek hőkezelését a húsokénál magasabb hőfokon végzik a sous-vide technológiában, de a táplevesben végzett hőkezeléseknél ismertettek miatt a *Zygosaccharomyces bailii* vegetatív sejtjeinek hőtűrése itt is gátat szab a modellezés hőfokmaximumának. Hasonlóan a táplevesben tapasztaltakhoz a vákuumcsomagolás ebben az esetben is minden vizsgált hőfokon szignifikáns különbségeket eredményezett. 50 °C-on 12 percig zöldség mixben hőkezelve az élesztőt mindkét technológiában minimális sejtszám csökkenést tapasztaltam (légköri: log 0,05 CFU/cm³, vákuumcsomagolt: log 0,06 CFU/cm³), amelyek értelmezése a malátakivonat agarban hőkezelt sejtékénél elmondottakkal azonos. Ugyan két nagyságrendnyi, de egymáshoz képest minimális különbség figyelhető meg az 55 °C-os hőkezeléseknél (légköri: log 0,23 CFU/cm³, vákuumcsomagolt: log 0,28 CFU/cm³). A 60

°C-os minták esetében 4 perces hőkezelést követően a léghő mintáknál közel kétszeres (log 2,03 CFU/cm³), míg vákuumsomagolásban egy nagyságrenddel nagyobb (log 3,12 CFU/cm³) sejtszám-redukciót figyelhettem meg (6. melléklet).

A pusztulási görbék (13-14. ábrák) lineáris szakasza alapján ebben az esetben is elemeztem a sous-vide technológia hőpusztulásra gyakorolt hatását, amelynek eredményeit a 17. táblázatban foglaltam össze.

17. táblázat: A *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T zöldség mixben végzett hőkezelésének eredményei

(°C)	k (1/perc)	D (perc)	RPS (1/perc)	RPI (perc)	Q ₁₀	Z érték (°C)
<i>Léghőnyomáson csomagolt minták</i>						
50	-0,002	233,33	2,21E-15	4,52E+14	115,14	4,85
55	-0,009	48,70	2,37E-14	4,22E+13		
60	-0,207	2,10	2,55E-13	3,93E+12		
<i>Vákuumsomagolt minták</i>						
50	-0,002	215,38	5,57E-17	1,80E+16	193,24	4,37
55	-0,010	42,11	7,74E-16	1,29E+15		
60	-0,348	1,25	1,08E-14	9,29E+13		

A szakirodalom feldolgozása során nem találtam olyan forrásmunkát, amelyben az általam is vizsgált *Zygosaccharomyces bailii* élesztőt hasonló technológiát modellezve hőkezelték volna. Az élelmiszer mátrixok közül egyedül Raso et al. (1998) végeztek vizsgálatokat a faj gyümölcslevelekben történő pusztulására vonatkozóan. Eredményként 60 °C-on pH 4,0 körüli értéken hőkezelve 1,97 – 4,48 perc D-értéket kaptak.

Akárcsak a vizsgált baktérium fajoknál, a *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T hőkezelése során vett mintákból is végeztem teljes DNS meghatározást annak igazolására, hogy valóban a modellezett technológia áll a sejtpusztulás hátterében, melyet a túlélő sejtek tenyésztése során tapasztalt csökkenés mutat. A 26 s RNS-t kódoló génszakasz össz DNS-ének kimutatása során a 18. táblázatban közölt adatokat kaptam.

18. táblázat: A *Zygosaccharomyces bailii* össz DNS mennyiségének változása a hőkezelések során.

	Táplevesben hőkezelve			Zöldség mixben hőkezelve	
	Légköri csomagolás	Vákuum csomagolás		Légköri csomagolás	Vákuum csomagolás
50 °C			50 °C		
Hőkezelés ideje (perc)	Cq érték	Cq érték	Hőkezelés ideje (perc)	Cq érték	Cq érték
0	16,59	16,84	0	21,62	21,36
2	16,74	16,74	2	21,65	20,91
4	16,34	15,92	4	21,90	20,81
6	17,10	16,42	6	20,81	20,51
8	17,38	16,87	8	21,15	20,80
10	16,88	16,16	10	21,46	20,76
12	16,96	16,54	12	21,22	20,70
55 °C			55 °C		
0	17,04	15,87	0	21,47	21,01
2	17,08	16,56	2	22,10	20,99
4	17,04	15,83	4	20,79	20,50
6	17,36	16,4	6	20,67	20,61
8	16,43	16,79	8	21,01	20,36
10	16,69	16,35	10	20,65	20,60
12	19,5	16,5	12	20,41	20,53
60 °C			60 °C		
0	16,93	16,07	0	20,25	20,65
1	17,32	16,24	1	20,31	20,73
2	17,11	16,43	2	20,22	20,71
3	17,24	16,00	3	20,17	20,78
4	16,82	15,41	4	20,57	20,80
poz. kontr.	18,46	15,87	poz. kontr.	22,58	21,74
neg. Kontr	-	-	neg. Kontr	-	-

4.7. Statisztikai értékelés

A pusztulási paraméterek számítása mellett a sejtszám értékek logaritmikus transzformációját követően azokat a 3.3.7. fejezetben ismertetett módon statisztikailag összehasonlítottam a szignifikáns különbségek megállapítása céljából. Eredményeimet a 19-20. táblázatokban és a 1-6. melléletekben foglaltam össze.

19. táblázat: A hőfokokkal jelzett hőkezelések szignifikancia vizsgálatának eredménye

	<i>Listeria monocytogenes</i> NCAIM B.01373 ^T		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	
	Vákuum- csomagolás	Kontroll	Vákuum- csomagolás	Kontroll
Modell közeg (Caso leves)	55 °C ^a	55 °C ^b	55 °C ^e	55 °C ^f
	60 °C ^a	60 °C ^b	60 °C ^e	60 °C ^e
	65 °C ^a	65 °C ^a	65 °C ^e	65 °C ^e
Élelmiszer mátrix (sertéshús)	55 °C ^c	55 °C ^d	55 °C ^g	55 °C ^h
	60 °C ^c	60 °C ^d	60 °C ^g	60 °C ^h
	65 °C ^c	65 °C ^c	65 °C ^g	65 °C ^h

^{abcde fgh} az eltérő kitevőjű értékek egy soron belül szignifikánsan ($p < 0,05$) különböznek.

Listeria monocytogenes NCAIM B.01373 típus törzsének modell közegekben és sertéshúsban végzett hőkezelése során a vákuumcsomagolás az 55 és 60 °C-on végzett hőntartások esetében szignifikáns különbséget eredményezett. A vákuumcsomagolt *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 törzs hőpusztulása modell

közegben 55 °C-os, míg sertéshúsban mindhárom vizsgált hőntartás mellett szignifikánsan gyorsabb volt.

20. táblázat: A hőfokokkal jelzett hőkezelések szignifikancia vizsgálatának eredménye

		<i>Zygosaccharomyces bailii</i> NCAIM Y.00954 ^T	
		Vákuumcsomagolás	Kontroll
Modell közeg (Malátakivonat leves)	50 °C ^a	50 °C ^b	50 °C ^b
	55 °C ^a	55 °C ^b	55 °C ^b
	60 °C ^a	60 °C ^b	60 °C ^b
Élelmiszer mátrix (zöldség mix)	50 °C ^c	50 °C ^d	50 °C ^d
	55 °C ^c	55 °C ^d	55 °C ^d
	60 °C ^c	60 °C ^d	60 °C ^d

^{abcd} az eltérő kitevőjű értékek egy soron belül szignifikánsan ($p < 0,05$) különböznek.

Zygosaccharomyces bailii NCAIM Y.00954 számú típusörzsének hőkezelése során a túlélő sejtek számának várható értéke mindhárom hőntartási hőmérsékletnél (50, 55 és 60 °C) szignifikánsan különbözött, gyorsabb pusztulást eredményezve a vákuumcsomagolt minták javára.

4.8. Tárolási kísérletek értékelése

Annak érdekében, hogy igazoljuk a modellezett technológia csírapusztító hatását, mind a hús, mind pedig a zöldség mátrixok esetében tárolási kísérleteket végeztünk olyan hőfokokon és hőntartási idők mellett kezelt mintákkal, amelyek a modellezés során a csíraszámot a *Listeria*

monocytogenes NCAIM B.01373^T, a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, illetve a *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T törzsek esetében a kimutathatósági határ alá csökkentették. A kezelési hőfokokat a 21. táblázatban foglaltam össze.

21. táblázat: A többségi pusztulást előidéző hőfokok és hőntartási idők* a vizsgált törzsek esetében

Vizsgált törzs	Minta jellege			
	Vákuumsomagolt		Kontroll (légköri nyomáson csomagolt)	
	Hőfok (°C)	Hőntartási idő (perc)	Hőfok (°C)	Hőntartási idő (perc)
<i>Listeria monocytogenes</i> NCAIM B.01373 ^T	65±0,5	11,05	65±0,5	33,29
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	65±0,5	9,86	65±0,5	17,96
<i>Zygosaccharomyces</i> <i>bailii</i> NCAIM Y.00954 ^T	60±0,5	6,55	60±0,5	12,62

*számított értékek

A darált hús mátrixokat a 3.3.8. fejezetben ismertetett módon 65 °C-on 9,86 – 33,29 percig hőkezelve a 2 hónapos tárolás alatt a 22-23. táblázatokban feltüntetett csíraszámokat kaptam. A vizsgált csíracsoportok kimutatását a 9. táblázatban ismertetett szabványok szerint végeztem.

22. táblázat: A *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T esetében többségi pusztulást jelentő hőkezeléssel kezelt húsminták tárolási eredménye

Tárolási idő	Vizsgálati irány	Telepszám (TKE/g v. j/h / 25 g)*	
		Vákuumcsomagolás	Kontroll
0. nap	<i>Salmonella sp.</i>	negatív/25 g	negatív/25 g
	<i>Listeria monocytogenes</i>	negatív/25 g	negatív/25 g
	<i>Clostridium perfringens</i>	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$
	<i>Escherichia coli</i>	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$
	<i>Enterococcus faecalis</i>	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$
	<i>Staphylococcus aureus</i>	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$
	Aerob mezofil csíraszám	$3,5 \times 10^1 \pm 0,4$	$4,2 \times 10^1 \pm 0,3$
1 hónap	<i>Salmonella sp.</i>	negatív/25 g	negatív/25 g
	<i>Listeria monocytogenes</i>	negatív/25 g	negatív/25 g
	<i>Clostridium perfringens</i>	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$
	<i>Escherichia coli</i>	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$
	<i>Enterococcus faecalis</i>	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$	$1,0 \times 10^1 \pm 0,4$
	<i>Staphylococcus aureus</i>	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$
	Aerob mezofil csíraszám	$3,9 \times 10^1$	$5,7 \times 10^1$
2 hónap	<i>Salmonella sp.</i>	negatív/25 g	negatív/25 g
	<i>Listeria monocytogenes</i>	negatív/25 g	negatív/25 g
	<i>Clostridium perfringens</i>	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$
	<i>Escherichia coli</i>	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$
	<i>Enterococcus faecalis</i>	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$	$2,7 \times 10^1 \pm 0,6$
	<i>Staphylococcus aureus</i>	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$
	Aerob mezofil csíraszám	$6,3 \times 10^1 \pm 0,5$	$9,1 \times 10^1 \pm 0,7$

*öt mérési eredmény átlaga

Az eredményekből (22. táblázat) jól látható, hogy az összcsíraszám emelkedése a tárolás alatt a vákuumcsomagolásban hőkezelt mintáknál lassabb - 0,3 nagyságrend - szemben a kontroll mintákéval, ahol az aerob

mezofil csíraszám értéke a két hónapos tárolás végére több mint a duplájára emelkedett. Az első hónapos minták vizsgálatánál - igaz a kimutathatósági határ közelében - de *Enterococcus faecalis* is kimutatható volt, melynek száma a 2. hónap végéig lassú emelkedést mutatott. *Salmonella*-fajokat, illetve *Listeria monocytogenes* nem mutattunk ki a mintákban, ahogyan *Staphylococcus aureus* és *E. coli* valamint a spórás *Clostridium perfringens* sem.

23. táblázat: A *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 esetében többségi pusztulást jelentő hőkezeléssel kezelt húsminták tárolási eredménye

Tárolási idő	Vizsgálati irány	Telepszám (TKE/g v. j/h / 25 g)	
		Vákuumcsomagolás	Kontroll
0. nap	<i>Salmonella sp.</i>	negatív/25 g	negatív/25 g
	<i>Listeria monocytogenes</i>	negatív/25 g	negatív/25 g
	<i>Clostridium perfringens</i>	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$
	<i>Escherichia coli</i>	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$
	<i>Enterococcus faecalis</i>	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$
	<i>Staphylococcus aureus</i>	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$
	Aerob mezofil csíraszám	$2,2 \times 10^1 \pm 0,2$	$3,7 \times 10^1 \pm 0,4$
1 hónap	<i>Salmonella sp.</i>	negatív/25 g	negatív/25 g
	<i>Listeria monocytogenes</i>	negatív/25 g	negatív/25 g
	<i>Clostridium perfringens</i>	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$
	<i>Escherichia coli</i>	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$
	<i>Enterococcus faecalis</i>	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$
	<i>Staphylococcus aureus</i>	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$
	Aerob mezofil csíraszám	$6,9 \times 10^1 \pm 0,4$	$7,4 \times 10^1 \pm 0,3$
2 hónap	<i>Salmonella sp.</i>	negatív/25 g	negatív/25 g
	<i>Listeria monocytogenes</i>	negatív/25 g	negatív/25 g
	<i>Clostridium perfringens</i>	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$
	<i>Escherichia coli</i>	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$
	<i>Enterococcus faecalis</i>	$1,9 \times 10^1 \pm 0,2$	$1,5 \times 10^1 \pm 0,4$
	<i>Staphylococcus aureus</i>	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$
	Aerob mezofil csíraszám	$8,6 \times 10^1 \pm 0,6$	$1,2 \times 10^2 \pm 0,7$

*öt mérési eredmény átlaga

A hús mátrix 65 °C-on 9,86 és 17,92 percig végzett hőntartásával kapott mintákban az aerob mezofil csírák száma a két hónapos tárolás alatt – hasonlóan az előzőekben leírtakhoz – emelkedést mutatott és elérte a grammonkénti száz-as nagyságrendet. Mivel a hőkezelésre szánt minták

azonos alapanyagból készültek sejthető volt, hogy az *Enterococcus faecalis* ezekben is megjelenik, de szemben az előzőekkel itt nem csak a kontroll, hanem a vákuumsomagolt minták is tartalmazták a második hónap végére. *Salmonella*-fajokat, illetve *Listeria monocytogenes* a dúsítások ellenére sem tartalmaztak a minták, *Staphylococcus aureus* és *E. coli* valamint a spórás *Clostridium perfringens* pedig a kimutathatósági határ alatt volt jelen.

A zöldség mátrix hőkezelését alacsonyabb hőfokon (60 °C) 6,55 – 12, 62 percig végezve a 24. táblázatban feltüntetett értékeket kaptam.

24. táblázat: A *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T esetében többségi pusztulást jelentő hőkezeléssel kezelt zöldség mix tárolási eredménye

Tárolási idő	Vizsgálati irány	Telepszám (TKE/g v. j/h / 25 g)*	
		Vákuumcsomagolás	Kontroll
0. nap	<i>Salmonella sp.</i>	negatív/25 g	negatív/25 g
	<i>Escherichia coli</i>	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$
	Penészgomba	$1,2 \times 10^1 \pm 0,2$	$1,9 \times 10^1 \pm 0,2$
	<i>Staphylococcus aureus</i>	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$
	Aerob mezofil csíraszám	$3,4 \times 10^1 \pm 0,3$	$2,1 \times 10^1 \pm 0,5$
1 hónap	<i>Salmonella sp.</i>	negatív/25 g	negatív/25 g
	<i>Escherichia coli</i>	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$	$1,6 \times 10^1 \pm 0,8$
	Penészgomba	$5,5 \times 10^1 \pm 0,7$	$4,7 \times 10^1 \pm 0,6$
	<i>Staphylococcus aureus</i>	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$
	Aerob mezofil csíraszám	$7,3 \times 10^1 \pm 0,5$	$6,8 \times 10^1 \pm 0,3$
2 hónap	<i>Salmonella sp.</i>	negatív/25 g	negatív/25 g
	<i>Escherichia coli</i>	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$	$4,9 \times 10^2 \pm 0,5$
	Penészgomba	$6,4 \times 10^1 \pm 0,6$	$6,1 \times 10^2 \pm 0,9$
	<i>Staphylococcus aureus</i>	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$	$<1,0 \times 10^1 \pm 0,0$
	Aerob mezofil csíraszám	$9,6 \times 10^1 \pm 0,5$	$1,8 \times 10^3 \pm 0,7$

*öt mérési eredmény átlaga

A zöldségeken nagy mennyiségben jelen lévő szaprofita mikrobióta következtében a csíraszám terheltség a húskénál magasabb. Jóllehet a vizsgálati irány kevesebb volt, mégis több mikroba faj esetében kaptam pozitív eredményt (24. táblázat). A 3.3.8. fejezetben bemutatott módszerekkel meghatározott csíraszámok közül az aerob mezofil mikroorganizmusok száma a vákuumcsomagolt mintáknál a két hónapos tárolás végére elérte a közel 100-as grammonkénti nagyságrendet, míg ugyanezen csoport a kontrolloknál meghaladta az egy nagyságrenddel

nagyobb 1000/g-os értéket. A mátrix jellegéből és a viszonylag alacsony hőfokú kezeléssel adódóan a penészgombák már a 0. napos mintákban is jelen voltak, igaz a kimutatási határhoz közeli mennyiségben. Számuk a tárolás alatt lassan növekedett és a 2. hónap végére a kontroll mintákban már a vákuum csomagoltakéhoz viszonyítva közel a duplája volt. A kontroll mintáknál az 1. és 2. hónap végén *E. coli-t* is kimutattam, amely száma a tárolás alatt lassan emelkedett és meghaladta utóbbinál a grammonkénti száz-as nagyságrendet. *Staphylococcus aureus-t* és *Salmonella*-fajokat egyik minta sem tartalmazott.

5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

5.1. Következtetések az élelmiszer-biztonság tükrében

Listeria monocytogenes NCAIM B.01373T és a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 hőkezelésének modellezésekor a hőmérsékletek kiválasztásánál azt vettem figyelembe, hogy a sous-vide technológia alkalmazása során melyek a leggyakrabban alkalmazott hőfokok a húsok esetében. A technológia elsődleges célja a fehérjék denaturációjának megakadályozása, ezért a hőkezeléseket 55 °C, 60 °C és 65 °C-on végeztem. A kísérletek párhuzamosan folytak a normál légköri nyomáson (kontroll) és a vákuum csomagolt mintákon.

Az egyes termékcsoportok élelmiszer biztonságának kialakítása során arra törekednek, hogy a mátrix természetes mikrobiótájának leghőellenállóbb és/vagy patogén tagjához igazítva a hőkezelést, a nevezett faj nagy biztonsággal elpusztítható legyen. Mivel a másik oldalon a késztermék organoleptikus tulajdonságainak minél kisebb arányú változása áll, ezért a sous-vide technológiában meg kell találni azon egyensúlyt, amellyel az étel élelmiszer biztonsága alacsony hőmérsékleten hőkezelve biztosítható; mindezt tartósítószer hozzáadása nélkül. A technológia mellett szól az igen jelentős káló veszteség csökkenése; azaz 8-10% - a megszokott, tradicionális eljárásnál előforduló 23-34% helyett. Az eljárással készült termékek esetében függően a direkt, indirekt, vagy vegyes főzési technológiától a 3-4 hetestől (Durucz, 2010) a 18 hónapos (URL³) eltarthatóság a cél.

5.2. Minimális hőntartási idő 6D pusztulás esetén

Bigelow et al. (1921) megállapították, hogy a mikrobiológiai sterilitás csak a minőség számottevő csökkenésével érhető el. Egy bizonyos hőkezelési idő után, adott hőmérsékleten már nagy valószínűséggel állítható, hogy mikrobiológiai romlással nem kell számolni. A mikrobiológiai stabilitás és a termék minőség elfogadható fogyaszthatósági szinten tartáshoz az un. D-elveket alkalmazzuk. Sous-vide esetében a megfelelő tartósság eléréséhez a sokkolást megelőzően minimum 6D hőpusztítás szükséges. Eredményeimet ezen követelményekhez igazítva a 6D pusztuláshoz szükséges hőntartási időket a 25-27. táblázatokban foglaltam össze.

25. táblázat: a 6D pusztuláshoz szükséges hőntartási idő (perc)

A hőkezelés közege	Hőkezelés hőmérséklete (°C)	<i>Listeria monocytogenes</i> NCAIM B.01373 ^T	
		Vákuumcsomagolás	Kontroll
Modell (Caso leves)	55	21,7	22,1
	60	5,6	5,7
	65	1,3	1,7
Élelmiszer mátrix (sertéshús)	55	157,5	397,4
	60	44,4	105,6
	65	12,2	32,1

Listeria monocytogenes NCAIM B.01373^T vizsgált baktériumfajok mindegyikénél elmondható, hogy a vákuumcsomagolás a félkonzervekre jellemző hat nagyságrendnyi sejtpusztuláshoz szükséges időt lerövidítette a modell közegben végzett hőkezeléseknél. Jóllehet ez minden esetben

egy percnél rövidebb intervallumot jelentett annak ellenére, hogy a várható értékek különbségei 55 °C-os hőkezelésnél szignifikánsak voltak, igaz abszolút értelemben kis szórás mellett.

A magyarázat a modell közegben fellépő kedvező entalpiaviszonyokkal magyarázható, hiszen a magas víztartalommal vákuumsomagolt minták felmelegedési sebessége a kontrollokéhoz hasonló, és a magasabb hőfokon végzett hőkezelések eredményeire a vákuumsomagolás már nem hat szignifikáns mértékben. Sokkal életszerűbb a mátrixban hőkezelt mikrobák 6D hőpusztulása, hiszen ebben az esetben a mintán belüli hőeloszlást a mátrix beltartalma jelentősen befolyásolhatja. Nem csak alacsony hőmérsékleten, de a sous-vide technológiában alkalmazott 65 °C-on hőkezelve a vákuumsomagolás már jelentős mértékben csökkentette a hat nagyságrendnyi pusztuláshoz szükséges időt. Mindhárom hőfokon közel két és fél szerez különbség (2,4 - 2,6) tapasztalható. Ugyanez kevésbé kifejezett a gram-pozitív *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 törzsnél, amelynek sertéshúsban végzett hőkezelése során 55 °C és 60 °C-on 1,3, míg a hagyományosan alkalmazott 65 °C-on 1,76-szor több hőntartás szükséges a hat nagyságrendnyi sejtpusztuláshoz. Az arányok a táplevesben végzett hőpusztulások esetén sem változnak. Alacsonyabb hőfokon alig mutatkozik különbség (1,1), de még 60-65 °C-on hőkezelve is másfél alatt marad az arány (1,3-1,5).

26. táblázat: A 6D pusztuláshoz szükséges hőntartási idő (perc)

A hőkezelés közege	Hőkezelés hőmérséklete (°C)	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	
		Vákuumcsomagolás	Kontroll
Modell (Caso leves)	55	140,9	154,1
	60	23,9	31,7
	65	4,2	6,1
Élelmiszer mátrix (sertéshús)	55	200,0	247,9
	60	74,9	98,4
	65	10,1	17,7

Az egyik legösszetettebb mátrixot *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T törzs esetében alkalmaztam. A zöldség mix magas rosttartalma jelentősen csökkenti a felmelegítés hatékonyságát, ezáltal az élesztő hőpusztulását a kontrollhoz képest kiegyenlíti. Magában a sous-vide technológiában is magasabb hőfokokat (70-80 °C) alkalmaznak a zöldségfélések kezelése során, mint a húsoknál, hiszen előbbieknél a rosttartalom fellazítása, míg utóbbinál a gélesedés elkerülése a cél. A vizsgált hőfokok közül mindhárom esetben rövidítette a vákuumcsomagolás a szükséges hőntartás idejét, de jóval kisebb arányban, mint azt a *Listeria* esetében láttuk. 50 °C-on a valamivel több mint 100 perces különbség is csupán 8 század eltolódást jelentett a vákuumcsomagolás javára, amely arány 60 °C-on is csupán 1,68 századig emelkedett.

27. táblázat: a 6D pusztuláshoz szükséges hőntartási idő (perc)

A hőkezelés közege	Hőkezelés hőmérséklete (°C)	<i>Zygosaccharomyces bailii</i> NCAIM Y.00954 ^T	
		Vákuumcsomagolás	Kontroll
Modell (Caso leves)	50	884,2	1083,9
	55	203,6	248,9
	60	4,3	5,3
Élelmiszer mátrix (zöldség mix)	50	1292,3	1400,0
	55	252,6	292,2
	60	7,5	12,6

Eredményeim alapján elmondható, hogy a sous-vide technológiát modellezve a 6D nagyságrendnyi pusztuláshoz szükséges minimális hőntartási idő *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T esetében 55 °C-on 157,5, 60 °C-on 44,4, míg 65 °C-on 12,2 perc.

Ugyanezen céllal *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 törzset hőkezelve a szükséges minimális hőntartási idő 55 °C-on 200,0, 60 °C-on 74,9, míg 65 °C-on 10,7 perc.

A *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T törzs esetében az alacsonyabb hőfokokon végzett hőntartások közül az 50 °C 1292,3, az 55 °C 252,6, míg a 60 °C 7,5 perc alatt eredményezi a túlélő élesztősejtek hat nagyságrendnyi pusztulását. 50-55 °C-os hőkezelés hatására nem történik számottevő fehérje denaturáció, vagy szerkezeti változás. Így ezeken a hőmérsékleteken olyan technológia kidolgozása lehetséges, ahol az élőcsíra-szám nagymértékű csökkentése mellett a termék megőrzi előnyös, a natív termékre jellemző tulajdonságait.

5.3. Az össz DNS mennyiségének változása a hőkezelés során

Az eredmények és értékelésük fejezetben a 12, 15 és 18. táblázatokban szereplő Cq értékek a mintában mért DNS koncentrációkkal fordítottan arányosak, vagyis alacsonyabb Cq érték nagyobb DNS koncentrációt jelent. Tekintettel a módszerben rejlő mérési és egyéb hibákra kijelenthető, hogy a megközelítőleg azonos Cq értékek ($x \pm 1$) azonos mennyiségű DNS jelenlétét feltételezik. Az élelmiszer mátrix inhomogenitása ezt a bizonytalanságot valamelyest rontja, ezért a kiértékelésnél minden mintasornál figyelembe kell venni, hogy mátrixból, vagy tápoldatból (táplevesből) származik.

Fontos megjegyezni, hogy a Cq értékek összehasonlításának csak mintasoron belül van értelme és jelentősége, mivel minden mintasor újabb kísérletet és nem feltétlenül pontosan ugyanannyi kiindulási mikrobaszámot jelent, továbbá a DNS tisztítás hatékonysága erősen függ a mátrixtól.

5.4. Relatív pusztulási sebesség (RPS) és Relatív pusztulási idő (RPI) változása a sous-vide technológia modellezése során

Amennyiben a $z = 10$ °C-t mutató mikroorganizmus hőpusztulási sebességét 121,1 °C-on egységnyinek tekintjük, akkor pl. 100 °C-on a relatív pusztulási sebesség csak 0,0077625, azaz 100 °C-on $1/0,0077625 = 128,8$ -szor hosszabb idő (ez a relatív pusztulási idő) alatt következik be azonos mérvű pusztulás, mint 121,1 °C-on. Ha a z érték nagyobb, mint 10 °C, akkor az F/t érték a hőmérséklet növelésével kisebb mértékben nő és fordítva. Eredményeimnél látható, hogy *Listeria monocytogenes*

NCAIM B.01373^T esetében modell közegben 55 és 65 °C közötti kezelések során a számított relatív pusztulási sebesség $5,98 \times 10^{-9}$ és $1,05 \times 10^{-7}$ között változott, amely a 121 °C-on végzettnél $1,67 \times 10^8$ – $9,54 \times 10^6$ -szor hosszabb hőkezelést jelent. A relatív pusztulási sebesség a vákuumcsomagolt mintáknál $5,12 \times 10^{-9}$ és $9,19 \times 10^{-8}$ között változott, amely így $1,95 \times 10^8$ – $1,10 \times 10^7$ relatív pusztulási időt eredményez. A hús mátrixban végzett kontroll minták hőpusztulása $3,69 \times 10^{-8}$ – $4,91 \times 10^{-7}$ -szer lassabb volt a 121 °C-on végzetthez viszonyítva ez $2,71 \times 10^7$ – $2,04 \times 10^6$ hosszabb RPI-t jelent. A vákuumcsomagolt mintáknál ezen értékek $1,39 \times 10^{-8}$ – $2,14 \times 10^{-7}$ (RPS), valamint $7,18 \times 10^7$ – $4,66 \times 10^6$ (RPI) voltak.

Staphylococcus aureus ATCC 25923 törzzsel táplevesben végzett modellezés során az RPS a kontroll mintáknál $3,69 \times 10^{-10}$ – $9,89 \times 10^{-9}$ (légköri), valamint $4,85 \times 10^{-11}$ – $1,76 \times 10^{-9}$ (vákuum) között változott, amely $2,70 \times 10^9$ – $1,01 \times 10^8$ (légköri), és $2,06 \times 10^{10}$ – $5,68 \times 10^8$ (vákuum) közötti RPI-t eredményez. Hús mátrixban a kontroll mintáknál $1,61 \times 10^{-8}$ – $2,44 \times 10^{-7}$ (légköri) és $1,95 \times 10^{-9}$ – $4,06 \times 10^{-8}$ (vákuum) relatív pusztulási sebességet számítottam, amely a függvényyszerű kapcsolat alapján $6,20 \times 10^7$ – $4,1 \times 10^6$ (légköri) és $5,11 \times 10^8$ – $2,46 \times 10^7$ (vákuum) RPI-t jelent.

A *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T élesztőnél táplevesben 50-60 °C között végzett hőntartások mellett a baktériumokéhoz viszonyítva közel egy nagyságrenddel kisebb RPS-t kaptam, légköri mintáknál $3,08 \times 10^{-17}$ és $6,47 \times 10^{-15}$ közötti, vákuum csomagoltaknál pedig $4,873 \times 10^{-17}$ és $9,95 \times 10^{-15}$ 1/perces értékkel. A relatív pusztulási idők ennek megfelelően vákuum csomagolásban $2,052 \times 10^{16}$ - $1,04 \times 10^{14}$,

míg a légköri mintáknál $3,24 \times 10^{16}$ - $1,55 \times 10^{14}$ között alakultak. Az élesztő zöldség mátrixban végzett hőkezelésénél a számított RPS légköri mintáknál $2,21 \times 10^{-15}$ és $2,55 \times 10^{-13}$ míg vákuumcsomagolásban a tápleveshez hasonló $5,57 \times 10^{-17}$ - $1,08 \times 10^{-14}$ 1/perc értéket kaptam. A pusztulási idők tekintetében ez $4,52 \times 10^{14}$ - $3,93 \times 10^{12}$ (légköri) és a táplevesben számíthatóhoz képest valamivel jobb $1,80E^{16}$ - $9,29E^{13}$ (vákuum csomagolás) értékeket eredményezett.

5.5. A k-érték változása a sous-vide technológia modellezése során

A hőpusztulási vizsgálatok sajátágos megközelítése, hogy a mikroorganizmusok pusztulását a szaporodásra képes, túlélő sejtek kimutatásával vizsgáltam, mivel az elpusztult, halott sejteket biztonsággal nem lehet kimutatni. Torzítja a felismerést, hogy a szubletálisan sérült sejtek összessége tenyésztés során nem kimutatható. A sejtpopuláció időben lejátszódó pusztulását alapul véve az elsőrendű kémiai reakciók alapján következtetek a pusztulás mértékére. Ennek az időbeli változásnak az egyik mérőszáma az általam is meghatározott k-érték, amely az egységnyi idő alatt elpusztult sejtek arányát fejezi ki. A mikroorganizmusok hőtűrése alapvetően faji, örökletes tulajdonság és egyenesen arányos szaporodásuk hőmérsékleti optimumával, azonban a mikroorganizmusok hőtűrését számos tényező befolyásolja, amelyek részben a mikrobasejt belső tulajdonságaival kapcsolatosak, részben a külső körülmények függvényei. A sejt élettani állapota a rezisztenciát befolyásolja. Kísérleteimben a vizsgált mikróbabpopulációk friss tenyészetei az élenken szaporodó (exponenciális szakaszban lévő) sejtek állapotában voltak, melyek érzékenyebbek a hőhatásra, mint az idősebb,

állandósult állapotú sejtek. A nagyobb szaporodási hőmérsékleten képződött sejtek ill. spórák hőrezisztenciája is nagyobb.

Ennek megfelelően a k -érték értelmezése a sous-vide technológia esetében erősen mátrix függő, hiszen különböző típusú alapanyagokat (mint a kísérleteimben is használt hús és zöldségfélék) eltérő hőfokon hőkezelik, melyet a fűszerezés tovább módosíthat. A hőrezisztenciát befolyásoló két legfontosabb külső tényező a pH és a vízaktivitás (a_w). Általában a hőtűrés a semleges pH körül a legnagyobb és azt a lúgos, de különösen a savas pH erősen csökkenti. A 4,5-nél savasabb pH-jú termékek hőkezelésére a 100 °C alatti pasztörözés is elegendő. Ennek következménye az élesztőfajok kísérleteim során zöldség mátrixban, mint savas közegben tapasztalt fokozottabb hőpusztulása, és az irodalmi adatok különbözősége (lsd. a 4.5. alfejezet). Mindemellett ez a tény teremti meg magának a sous-vide technológiának a létjogosultságát is a tartós termékek előállítása esetén. A kísérleti eredményeim alapján számított többségi pusztulási sebességet jellemző k -értékek, *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T esetében táplevesben hőkezelve -8,22 1/min a légköri mintáknál, míg vákuumcsomagolásban ugyanez az érték 10,82 volt. Az említett törzset húsban hőkezelve 65 °C-on mindkét csomagolási mód esetében 2 nagyságrenddel kisebb értékeket kaptam (légköri: -0,081 1/perc, vákuum: -0,213 1/perc).

5.6. A z-értékek változása a kezelések során

A jelenlegi gyakorlat, hogy a hőkezelések méretezése során a tétel teljes tömegében lévő túlélőket kell figyelembe venni. Ebben legfontosabb szerepet a túlélő sejtek aránya játszik, amelyet az általam is számított z-

értékek jól jellemeznék. A konzervek/félkonzervek sterilizálásánál száraz hőhatással általában nem kell számolni, de a hőkezelt termékek helyileg (pl. zsírcseppbe ágyazott spóra esetében) kialakulhatnak ilyen körülmények, amelyek a jellegükből fakadóan a sous-vide termékek hőkezelése során is fennállnak. A dolgozatomban alkalmazott mátrixok mindegyike nagy 0,98-0,99 a_w értékkel rendelkezett. Mivel a mikroorganizmusok hőtűrését már néhány tizednyi a_w -csökkenés jelentősen fokozza a sous-vide termékek esetében csak a zsírok, fehérjék és a rosttartalom hőpusztulást befolyásoló hatásával számolhatunk. A z-érték elsősorban genetikailag meghatározott faji jellemző, amely a modell közeg és a mátrixban végzett hőkezelések alkalmával számított z-értékek kis eltéréseiben is tetten érhető (10-16. táblázatok). *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T esetében a táplevesben végzett hőkezelések alkalmával közel azonos z-értékeket kaptam (légköri: 8,04, vákuumcsomagolt: 7,97), de a hús mátrixban végzett hőkezelések is csupán 0,48 °C különbséget mutattak.

Hasonló eredményt kaptam a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 táplevesben végzett hőkezelése során ahol a légköri és vákuumcsomagolt minták közti különbség 0,6 °C volt. Ugyanezen törzs hőpusztulását húsban modellezve a vákuumcsomagolás az eredeti 8,48 °C-os értéket 0,89-el csökkentette (7,59 °C).

A baktériumokhoz képest csekély hőtűréssel rendelkező *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T élesztőnél a z-érték stagnálása még kifejezettebb volt. Táplevesben eltérő csomagolásban hőkezelve gyakorlatilag ugyanazt a z-értéket kaptam (4,31 és 4,36 °C).

Zöldség mátrixban hőkezelve is csupán 0,48 °C különbség mutatkozott a vákuumcsomagolás javára (4,85 és 4,37 °C).

5.7. Mikrobiológiai-higiéniai állapot megítélése a tárolási kísérletek alapján

A mikroorganizmusok pusztulásának meghatározási nehézségeit egyrészt a vegyes mikrobapopuláció, másrészt a korlátozott számú mérés és a linearizálások adják. A nagymennyiségű/tömegű termékek hőkezeltségi mértékének meghatározása ipari körülmények között zajlik, míg a tizedre csökkenési időt laboratóriumi termosztátokban (víz illetve olajfürdő) és 1 cm átmérőjű ampullákban vagy TDT (Thermal Death Time) dobozokban nagyobbrészt híg vizes baktérium szuszpenziókkal határozzák meg. Ezek az ampullák és tartalmaik szinte azonnal felveszik a környező vízfürdő hőmérsékletét. Mivel a sous-vide konyhatechnikában kisebb 0,5 – 1 liter térfogatokkal dolgoznak az általam végzett modellezés – főleg magasabb víztartalmú ételek pl. levesek esetében- jobban közelíti a gyakorlatban alkalmazott eljárásokat amely a megadott paraméterek használhatóságát nagyban javítja.

A mátrixban modellezett sous-vide technológiának a nehézségét az adja, hogy az alapanyag sokkal viszkózusabb, és sokszor jelentős a szilárd anyag bennük, sőt sok teljesen szilárd anyag alakítja a tartalmukat. Mindez, ahogy a kapott D értékekből is láttuk egyrészt nagyobb késleltetődést jelent a melegedésben, másrészt a hőmérséklet a hőkezelendő anyagban térben és időben is változik. Ezért minden időpillanatban más D értékkel kell a pusztulást az adott pontban

számolni. Amennyiben a hőkezelés során csak egy paramétert, jelen esetben csak a maghőmérsékletet vesszük figyelembe, akkor az elérendő maghőmérséklet egyedüli előírásként elfogadása csak a hőkezelés szükséges, de nem elégséges feltételét biztosítja (Körmendy, 1987; Zsarnóczay et al. 1988). Alkalmazása mégis általános hiszen már Bigelow idejében is ismert volt, hogy a kezelt termékben a hőmérséklet a hely és az idő függvénye. A hőkezelttség mértékét pedig a termék leglassabban melegedő pontjában az un. magban, vagyis a geometriai középpontjában kell ellenőrizni. Ha ez a pont megfelelő hőterhelést kapott, az összes többi pont ennél csak többet kaphatott, így a baktériumok elpusztítása biztos, ha a középpontra vonatkoztatva egy bizonyos határértéket elérünk. Az általam alkalmazott különböző hőkezelési módok esetén a térhőmérsékletek és az idő-hőmérséklet párok értékei eltérően alakultak, így különböző hőkezelési egyenértékeket, és ennél fogva eltérő mikrobiológiai stabilitást, illetve eltarthatóságot eredményezhettek. Ezen felül az enzimek és a mikroorganizmusok hőpusztulása nem pillanatszerűen, hanem az egyes hőmérsékleten eltöltött idő alapján az un. rész pusztulási értékekből tevődtek össze. A 3.3.8. fejezetben leírtak alapján dolgozatomban ezen hőntartási idők mikrobiológiai-higiéniai állapotra gyakorolt hatását vizsgáltam. A tartósság megítélése végett végzett tárolási teszt eredményeinek értelmezéséhez figyelembe kell vennünk az alkalmazott rendeletek határértékeit, melyeket a 28. táblázatban foglaltam össze.

28. táblázat: A tárolási kísérlet során figyelembe vett rendeletek határértékei

Kategória	Vizsgálati irány	n	c	m	M
Készételek	<i>Salmonella sp.</i>	10	-	-	0/25 g
	<i>Staphylococcus aureus</i>	5	1	10	10
	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10	10
	<i>Clostridium perfringens</i>	5	2	1	10
Növényi eredetű nyers termék	Penészgomba szám	5	2	10 ³	10 ⁴
2073/2005	<i>Listeria monocytogenes</i>	10	-	-	0/25 g
Hústermékek	Aerob mezofil csíraszám	5	3	10 ⁵	10 ^{7*}
	<i>Enterococcus faecalis</i>	5	2	10 ⁵	10 ⁵

*csak hús mátrix esetében előírás

n: A mintát alkotó elemi minták száma.

m: Mikrobaszám küszöbérték. Az eredmény akkor megfelelő, ha a mikrobaszám egyetlen mintában sem több, mint „m”.

M: „visszautasítási határérték”

c: Azon mintaegységek száma, amelyekben a mikrobaszám „m” és „M” között lehet. A minta akkor elfogadható, ha a többi mintaegység mikrobaszáma ≤ „m”-mel.

A tárolási kísérletek alkalmával kapott sejtszámok alapján elmondható, hogy a 65 °C-on 11,1 - 33,3 percig (vákuumcsomagolt és kontroll) hőkezelt minták mindegyike megfelelt a vizsgált paraméterek tekintetében. A növekvő összcsíra számok egyike sem lépte túl a rendelet határértékeit. A kontroll mintáknál megjelenő *Enterococcus* (jóllehet számuk a nulladik napon a kimutathatósági határ alatt volt), mint a

leghőtűrőbb nem spórás baktérium jelenléte feltételezhette egyrészt a kontroll minták kevésbé hatékony hőkezelését, másrészt a vákuumsomagolással szemben az kontroll minták magasabb oxigéntenziója következtében fellépő szaporodást.

A 65 °C-on 9,9 – 18,00 percig (vákuumsomagolt és kontroll) hőntartott minták esetében is az előzőekben elmondottak érvényesültek. Hőtűrő fajok közül az *Enterococcus* nem csak a kontroll minták, de a vákuumsomagolt minták esetében is megjelent a kísérlet 2. hónapjának végére, azonban mindkét esetben az „m” küszöbérték alatti mennyiségben. *Staphylococcus aureus* annak ellenére sem mutattam ki, hogy a hőfokminimuma az *Enterococcus*éhoz hasonlóan 7 °C körül alakul.

A leírtak mellett a minták *Salmonella*-fajokat, *Listeria monocytogenes*, *E. coli*, valamint kifejezetten hőtűrő spórás *Clostridium perfringens*-t sem tartalmaztak, ezért elmondhatjuk, hogy a sous-vide technológia az általam meghatározott hőntartási paraméterekkel alkalmazva darált sertéshús mátrixnak a tárolás 8. hetéig megfelelő mikrobiológiai-higiéniai stabilitást biztosít.

A *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T esetében többségi pusztulást jelentő hőkezeléssel (60 °C 6,6 - 12,6) perc, vákuumsomagolt, illetve kontroll) kezelt zöldség mixben a kontroll minták összcsíraszama a tárolás 2. hónapjának a végén 3 ismételt vizsgálatban is elérte a 10³/g értéket. Az első hónap végén a 10/g kimutathatósági határt kismértékben meghaladva *E.coli*-t is kimutattam. Mivel ezen mikroorganizmus esetében a kimutathatósági határ és a küszöbérték megegyezik, így a kontroll minta az 1. hónap végére

higiéniai szempontból kifogásolható. Ugyanez nem mondható el a vákuumcsomagolt mintákról, amelyekben a csíraszám párhuzamosan a penész szám is emelkedett a kontrolléhoz viszonyítva (feltehetően a kedvező mikroaerofil környezetnek), de a kísérlet végére a vizsgált 5 ismétlés átlagában így sem érte el a 10^3 /g-os küszöbértéket. Mivel a minták sem *Salmonella*-t, sem *Staphylococcus aureus*-t, a vákuumcsomagoltaké pedig *E.coli*-t sem tartalmaztak, összességében elmondható, hogy a sous-vide technológia az általam meghatározott hőntartási paraméterekkel alkalmazva vákuumcsomagolt zöldség mátrixnak a tárolás 8. hetéig megfelelő mikrobiológiai-higiéniai stabilitást biztosított.

Jóllehet a tárolási kísérletekben a vonatkozó 2073/2005 EK és a 4/1998 EüM sz. rendelet szerinti mikrobacsoportokat vizsgáltam, de véleményem szerint az „aerob mezofil csíraszám”, vagy a penészsám a vákuumcsomagolt mintáknál nem ad kellő információt a minta mikrobiológiai állapotáról, ezért javasolható annak kibővítése esetleg anaerob mikrobaszám, vagy tejsavbaktérium-szám vizsgálatokkal.

5.8. A meghatározott paraméterek gyakorlati alkalmazása

Az általam meghatározott hőkezelési paraméterek gyakorlatba történő átültetése során figyelemmel kell lenni azon tényezőkre, amelyek a megfelelő pasztörözöttség elérésére hatással vannak. Ilyen maga a termék összetétele, amely erősen befolyásolja annak pH értékét. A vízaktivitást nemcsak a primer összetétel, hanem az adalékanyagok vízkötőképessége is befolyásolja. Szerencsére ez utóbbi használata a sous-vide technológiában csupán a fűszerekre korlátozódik. Fontos megemlíteni,

hogy a termékek eltarthatóvá tételében nemcsak a mikroorganizmusokat, hanem az enzimeket is inaktiválni kell, mert ha az enzimek tévékenységé fennmarad, a termék hátrányos érzékszervi elváltozáson (pl. avasodás, színelváltozás stb.) eshet át, ami romláshoz is vezethet. Az enzimek inaktiválása a sous-vide technológiával készült zöldségeknél, valamint fagyasztott és szárított termékeknél történhet az előfőzés és a hőkezelés alatt is. A hőkezelés mellett egyes esetekben kifejezetten egy adott ízt, színt stb. befolyásoló reakciót akarunk előidézni.

A jó minőségű sous-vide termékek előállítása egy sajátos kettősség egyensúlyán múlik: a mikrobiológiai és a technológiai alapelv egyöntetűen a gyors intenzív hőátadást részesíti előnyben. Ezzel szemben a „fékezőerőt” a művelettani alapelv jelenti, amely kimondja, hogy a hőpenetrációt úgy kell szabályozni, hogy az lehetőleg ne a károsodást, hanem a baktériumpusztító hatású melegedést szolgálja. Az alapelvet a Newton féle lehűlés/felmelegedési törvény és a felület elemre felírt normál irányú Fourier I törvény egyensúlya jelenti, vagyis a felületre bejuttatott hő minél jobban haladjon befele a termék geometriai középpontja felé. A sous-vide hőkezelések során időegység alatt kevesebb hőmennyiséget juttatunk be a termékbe, tehát a felületről el nem szállított hőmennyiség lecsökken, és így a felületi túlmelegedésből eredő hőkárosodás nem lesz olyan nagymértékű. A felsoroltakat kiegészítve

törekedni kell arra, hogy az élelmiszerbiztonsági szabályok betartása mellett a sous-vide alkalmazásához kiváló minőségű, friss és higiénikusan kezelt alapanyagot biztosítsunk.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Dolgozatomban az élelmiszerek sous-vide technológiához kapcsolódó mikrobiológiai stabilitásával foglalkoztam. A szakirodalom feldolgozása során ismertettem a technológiához kapcsolódó fontosabb törvényi szabályozásokat, illetve az élelmiszerek és azokon belül a húsok és a növényi eredetű nyersanyagok mikrobiológiai biztonságát. A sous-vide technológiával megvalósított tartósítás értelmezhetősége végett foglalkoztam a húst, mint mátrixot jellemző romlási folyamatokkal és a mikrobiótájában előforduló fajok közül a *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, valamint a *Zygosaccharomyces bailii* élelmiszer-higiéniai jelentőségével. Az élelmiszer-hőkezelések ezen belül a kíméletes hőkezelések közül ismertettem a molekuláris gasztronómia, illetve a sous-vide technológia jellegzetességeit, minőségi és mikrobiológiai-biztonsági vonatkozásait. Kitértem a technológia alkalmazásainak jellegzetességeire, illetve a sous-vide gyakorlati alkalmazhatóságára.

Célkitűzéseim közé tartozott, hogy megvizsgáljam a sous-vide termékek romlását okozó mikrobiotából a *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, valamint a *Zygosaccharomyces bailii* esetében a sous-vide tartósítási technológia pusztulási kinetikára gyakorolt hatását. További célkitűzésem volt, hogy a sous-vide elvekkkel és a félkonzervekre jellemző 6D elvekkkel összhangban meghatározzam azon minimális hőkezelési paramétereket, amelyekkel ezen fajok száma a biztonságos szintre csökkenthető.

Vizsgálataimat a Nyugat-Magyarországi Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Karának Élelmiszertudományi Intézetében működő NAT-1-1674/2012 számon akkreditált Élelmiszer és Vízzvizsgáló laboratóriumában végeztem. Kísérleteimben két élelmiszer patogén baktérium a *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T típus törzsének és koaguláz pozitív *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 törzsének hőpusztulását vizsgáltam sous-vide technológiát modellezve mesterséges tápközegben, és élelmiszer mátrixban (sertés hús). Kontrollként kezeletlen mintákat alkalmaztam. Vizsgálatainkat eltérő hőfokon, de ugyanezen körülményeket modellezve *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T élesztőtörzsszel is elvégeztem, mely faj jelentőségét a sous-vide termékek tárolása során korábban ismertettem. A modell közeg mellett élelmiszer mátrixként zöldség mixet alkalmaztam.

A hőkezelések során a sous-vide technológiának megfelelően 99%-os légritkítás mellett vákuumcsomagolt és a vizsgált mikroorganizmusokkal befertőzött mintákat cirkulációs hőntartóban kezeltem. *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T törzs és koaguláz pozitív *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 törzs esetében 55, 60 és 65 °C-on, *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T élesztő esetében pedig 50, 55 és 60 °C-os hőntartásokat alkalmaztam. Kontrollként légköri nyomáson lecsomagolt mintákat alkalmaztam. A pusztulási görbéket a hőkezelések során túlélő sejtek száma alapján vettem fel, melyek kimutatására klasszikus tenyésztéses mikrobiológiai módszereket alkalmaztam. Eredményeim validálása érdekében a hőkezelések során vett mintavételek mindegyikéből PCR vizsgálatokat is végeztem annak igazolására, hogy a szelektív és elektív táptalajokkal végzett tenyésztések

eredményei valóban a kezdetben jelen lévő populáció túlélő sejtjeit jelentették. Méréseim alapján meghatároztam a hőpusztulási paraméterek közül a tizedelési időt (D-érték), a z-értéket, a hőmérsékleti együtthatót (Q_{10}), a relatív pusztulási sebességet (RPS) és a relatív pusztulási időt (RPI). A légköri és a vákuum csomagolt minták hőkezelése során logaritmusos transzformációt követően a túlélő sejtek számait regresszióval, illetve szórásaik egyezését F próbával a normális eloszlású sokaságok várható értékeinek egyezését pedig t-próbával döntöttem el. A sous-vide termékek esetében is elfogadott 2 hónapos tárolási idő alatt felmértem a hőkezeléseim eredményei alapján előállított termékek mikrobiológiai-higiéniái megfelelőségét, melynek mindkét termék kategória (zöldség mix és darált hús) eleget tett.

Eredményeim alapján elmondható, hogy a *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T törzssel befertőzött minták túlélő sejtek számában szignifikáns különbséget a kontroll mintákhoz képest modell közegben és hús mátrixban egyaránt 55 és 60 °C-os hőntartás mellett kaptam. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 törzs modell közegben 55 °C-on, hús mátrixban pedig mindhárom hőfokon (55, 60 és 65 °C) végzett hőntartásainak eredményei szignifikáns különbséget mutattak. *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954 típus törzsével befertőzött minták modell közegben és zöldség mixben végzett hőkezelése a túlélő sejtek számában mindhárom hőntartási hőfokon (50, 55 és 60 °C) szignifikáns különbséget eredményezett.

A vizsgált törzsek pusztulási görbéinek lefutásai alapján meghatároztam azon minimális hőntartási időket, amelyeket betartva a vizsgált hőfokokon a kiindulási sejtszám 6 nagyságrendet csökken (6D elv)

ezáltal a termékek mikrobiológiai-higiéniái biztonsága kedvezőbb organoleptikus tulajdonságok mellett növelhető.

Dolgozatomban bemutatott vizsgálataimat hét új tudományos eredmény formájában foglaltam össze.

7. SUMMARY

In my dissertation, I investigated the microbiological stability of foods relating to sous-vide technology. During the *literature processing*, I presented important legal regulations related to this technology and the microbiological safety of foods, like meats and *plant-based raw materials*. In order to define the preservation implemented by the sous-vide technology, I investigated the degradation processes of meat matrix. I examined the importance of food hygiene of these processes and species like *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Zygosaccharomyces bailii* which contain the microbiota of meat matrix. I described the characteristics of molecular gastronomy and sous-vide technology, their quality and microbiological safety aspects from among food heat treatments and mild heat treatments. I touched upon application characteristics of this technology and the practical usability of sous-vide. *Our objective* was to examine sous-vide product spoilage organisms like *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and *Zygosaccharomyces bailii* and their effects on mortality kinetics caused by sous-vide preserving technology. Our further objective was to determine the minimal heat treatment parameters in accordance with sous-vide principles and semi-canned 6D principles with which the number of these species can be reduced to a safe level.

Our examinations were carried out in an accredited food and water testing laboratory (certification number: NAT-1-1674/2012) operating at the Institute of Food Sciences of the Faculty of Agricultural and Food Sciences, University of West Hungary. In our studies, we investigated the

thermal degradation of two food pathogenic bacteria, the *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T type strain and the coagulase positive *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 strain modelling the sous-vide technology in artificial medium and food matrix (swine meat). Untreated samples were used as control. Our tests were carried out on different temperatures but modelling the same conditions with *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T yeast strain as well. I earlier described the significance of this species during the storage of the sous-vide products. Besides the model medium, vegetable mix was used as food matrix.

During the heat treatment, we treated the samples in circulation thermostat. In accordance with the sous vide technology we vacuum-packaged (99% vacuum) and inoculated the samples with microorganisms mentioned above. We applied 55, 60 and 65 °C heat holding temperatures for *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T and coagulase positive *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 strains. In case of the *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T yeast strain, 50, 55 and 60 °C degrees were applied. As for controls, atmospheric pressure packed samples were used. The mortality curves were based on the number of surviving cells during heat treatments. To detect them, classical microbiological methods were used. In order to validate the results, we tested the heat treated samples by PCR tests as well, to confirm that the results of the cultures performed on elective and selective media are really show surviving cells of the population initially appearing. By our measurements, we determined such thermal death parameters like decimal reduction time (D-value), z-value, temperature

coefficient (Q_{10}), relative mortality rate (RMR) and relative mortality time (RMT). Number of the surviving cell was determined by regression, scattering was presented by F-test, expected values of abundance of *normal distribution* were decided by t-tests after logarithmic transformation during the heat treatment of atmospheric and vacuum-packed samples. During two-month storage period adapted for sous-vide products, we surveyed the microbiological hygienic adequacy of products based on the results of heat treatments. Both product categories (vegetable mix and minced meat) were appropriate.

According to our results, a significant difference in the number of surviving cells was experienced on 55 to 60 °C holding time both in model medium and meat matrix. This occurred in the case of samples inoculated by *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T strains and the control samples as well. Heat holding results of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 strain showed a significant difference in model medium (on 55 °C) and in meat matrix (on three temperatures: 55, 60 and 65 °C). As for the number of surviving cells, heat treatment of samples inoculated by *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T type strain resulted in a significant difference in model medium and vegetable mix on all three heat holding temperatures (50, 55 and 60 °C).

We determined minimum holding times using decay curves of tested strains. Applying these values on the test temperatures, the initial cell number decreases six orders of magnitude (6D principle). Thus, microbiological hygienic safety of the products can be increased beside favorable organoleptic properties. I summarized my research results in seven new scientific findings in my thesis.

8. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T törzs 55 °C-on 10 percig, 60 °C-on 4 percig modell közegben, valamint 40 percig hús mátrixban végzett hőntartása alkalmával a sejtek pusztulását a 99%-os vákuumcsomagolás szignifikánsan gyorsította.
2. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 törzs 55 °C-on 15 percig modell közegben, illetve 55 és 60 °C-on 40 percig, valamint 65 °C-on 9 percig hús mátrixban végzett hőntartása alkalmával a sejtek pusztulását a 99%-os vákuumcsomagolás szignifikánsan gyorsította.
3. *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954 típus törzsének modell közegben és zöldség mátrixban 50 és 55 °C-on 12 percig, valamint 60 °C-on 4 percig végzett hőntartása alkalmával a vegetatív sejtek pusztulását a 99%-os vákuumcsomagolás szignifikánsan gyorsította.
4. *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373 számú típus törzsének 6 nagyságrendnyi pusztulásához szükséges minimális hőntartási idő modell közegben (Caso leves) 55 °C-on 21,7, 60 °C-on 5,6, illetve 65 °C-on 1,3 perc, darált sertéshúsban pedig 55 °C-on 157,5, 60 °C-on 44,4, valamint 65 °C-on 12,2 perc.
5. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 törzs 6 nagyságrendnyi pusztulásához szükséges minimális hőntartási idő modell közegben (Caso leves) 55 °C-on 140,9, 60 °C-on 23,9, illetve 65 °C-on 4,2

perc, darált sertéshúsban pedig 55 °C-on 200,0, 60 °C-on 74,9, valamint 65 °C-on 10,1 perc.

6. *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954 számú típusörzsének 6 nagyságrendnyi pusztulásához szükséges minimális hőntartási idő modell közegben (Caso leves) 50 °C-on 884,2, 55 °C-on 203,6, illetve 60 °C-on 4,3 perc, zöldség mixben pedig 50 °C-on 1400, 55 °C-on 292,2, valamint 60 °C-on 12,6 perc.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetemet fejezem ki konzulenseimnek Prof. Dr. habil Szigeti Jenőnek és Dr. Ásványi Balázsnak, valamint Prof. Dr. Neményi Miklósnak a Wittmann Antal Növény-, Állat- és Élelmiszer- tudományi Multidiszciplináris Doktori Iskola vezetőjének a dolgozat elkészítéséhez nyújtott iránymutatásaiért.

Köszönet illeti továbbá az NYME-MÉK Élelmiszertudományi intézetében, valamint a Galen Bio Kft-ben és RT-Europe Nonprofit Kft-ben dolgozó valamennyi kollégámat tudományos munkám elkészítésében nyújtott segítségükért.

Köszönetem fejezem ki opponenseimnek áldozatos bírálati munkájukért, hasznos, építő jellegű tanácsaikért, melyekkel hozzájárultak dolgozatom jobbá tételéhez.

Külön köszönet illeti Családomat, türelmükért, valamint erkölcsi és anyagi támogatásukért!

9. SZAKIRODALOM JEGYZÉKE

Adams, M.R., Moss, M.O. (1995): Bacterial Agents of Foodborn Illnesses, Food Microbiology, The Royal Society of Chemistry Le Loir, Y., Baron, F., Gautier, M. (2003): Staphylococcus aureus and food poisoning. Genetics and Molecular Research, 2 (1) pp. 63-76.

Angelotti, R., Foter, M.J., Lewis, K.H. (1961b): Time-temperature effects on Salmonellae and Staphylococci in Foods. III. Thermal death time studies. Appl. Microbiol. 9, pp. 308-315.

Anon (2000): Kintetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies overarching principles: kinetics and pathogens of concern for all technologies, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Us Food and Drug Administration. pp. 1-37.

Armstrong, G.A., McIlveen, H. (2000): Effects of prolonged storage on the sensory quality and consumer acceptance of „sous-vide” meat-based recipe dishes. Food Quality and Preference. 11, pp. 377–385.

Barnett, J.A, Payne, R.W., Yarrow, D. (1983): Yeasts: Characteristics and Identification. Cambridge University Press, Cambridge. ISBN: 9780521573962 3, pp. 1-1150.

Barta, J., Körmendy, I. (2007): A növényi nyersanyagok mosása. In: Barta József, Körmendy Imre (szerk): Növényi nyersanyagok feldolgozás-technológiai műveletei. Mezőgazda Kiadó, Budapest. pp. 70-75.

Beckers, H.J., Soentoro, S.S., Delfgou-van Asch., E.H.M. (1987): The occurrence of Listeria monocytogenes in soft cheeses és raw milk and its resistance to heat. Int. J. Food Microbiol. 4, pp. 249-256.

Bergdoll, M.D. (1989): Staphylococcus aureus. In Doyle, M.P. (ed.) Foodborne Bacterial Pathogens. pp. 463-523.

Bigelow, W.D. (1921): The logarithmic nature of thermal death time curves. *J. Infectious Dis.* 29, pp. 528-536.

Biró, G. (2000): Élelmiszer-biztonság. In *Biró, G. és Biró, Gy. (szerk.) Élelmiszer-biztonság, Táplálkozáségeszségügy.* Agroinform Kiadó, Budapest. pp. 1-400.

Biró, G. (2014): Élelmiszer higiénia, Agroinform Kiadó, Budapest. pp.1-668.

Blackburn, C.W. (2003): Microbiological analysis and food safety management: GMP and HACCP systems. In: *McMeekin, T.A. (ed.) Detecting pathogens in food.* Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England. Chapter 1, pp. 3-19.

Bolton, D.J., McMahon, C.M., Doherty, A.M., Sheridan, J.J., McDowell, D.A., Blair, I.S., Harrington, D. (2000): Thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Yersinia enterocolitica* in minced beef under laboratory conditions and in sous-vide prepared minced and solid beef cooked in a commercial retort. *Journal of Applied Microbiology* (88), pp. 626-632.

Brackett, R.E. (1987): Vegetables and Related Products. In *Beuchat, L.R.(Szerk.): Food and Beverage Mycology.* New York: Van Nostrand Reinhold Company Inc. pp. 129-145.

Brennan, J.G., Butters, J.R., Cowell, N.D., Lilley, A.E.V. (1990): *Food Engineering Operations* 3rd edn, Elsevier Applied Science, London. pp. 337-370.

Casadei, M.A., Esteves de Matos, R., Harrison, S.T., Gaze, J.E. (1998): Heat resistance of *Listeria monocytogenes* in dairy products as affected by the growth medium. *Journal of Applied Microbiology* 84, pp. 234–239.

Casolari, C.A., Fabio, A., Menziani, G. (1994): Characterization of *Listeria monocytogenes* strains detected in meat and meat products. *L'Igiene Moderna.* 101, pp. 193-215.

Church, I. (1998): The sensory quality, microbiological safety and shelf life of packaged foods. In Ghazala, S (*ed.*): *Sous Vide and Cook–Chill Processing for the Food Industry*. Aspen Publishers, Gaithersburg, Maryland. pp. 190–205.

Church, I., Parsons, A.L. (2000): The sensory quality of chicken and potato products prepared using cook-chill and „sous-vide” methods. *International Journal of Food Science and Technology*. 35, pp. 155–162.

Comi, G., Frigerio, R., Cantoni, C. (1992): *Listeria monocytogenes* serotypes in Italian meat products. *Lett. Appl. Microbiol.* 15, pp. 168–171.

Constable, A., Jonas, D., Cockburn, A., Davi, A., Edwards, G., Hepburn, P., Herouet-Guicheney, C., Knowles, M., Moseley, B., Oberdörfer, R., Samuels, F. (2007): History of safe use as applied to the safety assessment of novel foods and foods derived from genetically modified organisms. *Food and Chemical Toxicology*. 45, pp. 2513–2525.

Creed, P.G. (1995): The sensory and nutritional quality of sous- vide foods. *Food Control*. 6, pp. 45–52.

Creed, P.G. (1998): Sensory and nutritional aspects of sous vide processed foods. In Ghazala, S (*ed.*): *Sous Vide and Cook–Chill Processing for the Food Industry*. Aspen Publishers, Gaithersburg, Maryland. pp. 57–88.

Csiszár, V.(1964): Húsvizsgálat és húshigiéne, Budapest. Mezőgazdasági Kiadó. pp. 1-421.

Dalton, C.B., Austin, C.C., Sobel, J. (1997): An outbreak of gastroenteritis and fever due to *Listeria monocytogenes* in milk. *New Engl. J. Med.* 336, pp. 100-105.

Davey, C. L., Gilbert, K. V. (1974): Temperature-dependant toughness in beef. *Journal of Science Food and Agriculture*, 25, p. 931.

Deák, T., Beuchat, L.R. (1996): Handbook of Food Spoilage Yeasts. CRC Press, Boca Raton. pp. 61-97.

Deák, T., Farkas, J., Incze, K. (1980): Konzerv-, hús- és hűtőipai mikrobiológia, Budapest, Mezőgazda kiadó, p. 53.

Deák, T., Kiskó G., Maráz, A., Mohácsiné Farkas, CS. (2006): Élelmiszer-mikrobiológia. Mezőgazda kiadó, Budapest. pp. 1-315.

Deák, T., (1998): Élesztőgombák a természetben és az iparban, Mezőgazdasági Szaktudás Kiadó, Budapest. pp.1-244.

del Rosario, L., Barth, S.S., Rutter, M., Ray, B. (1995): Molecular analysis of *Listeria monocytogenes* isolates associated with the consumption of *Listeria* contaminated mixed vegetables. 95th Annual Meeting of the ASM, May 21-25, Washington DC. p. 13.

Dilella, A.G., Sobota, A.E. (1980): Degradation of 16S RNA in thermally injured *Staphylococcus epidermidis*. OHIO J. SCI. 80, p. 8.

Dombay, E., Bányai, M. (szerk.) (1982): A zöldségfélék tárolhatóságának biokémiai és élettani alapjai. In Terménytárolás szellőztetéssel. Mezőgazdasági Kiadó. Budapest. pp. 10-50.

Durucz, A. (2010): Főzés sous-vide technológiával. Élelmezés. p. 47.

Erickson, J.P., McKenna, D.N. (1999): *Zygosaccharomyces*. In: Robinson, R.K, Batt, C.A, Patel, P.D (Eds.), Encyclopedia of Food Microbiology, vol. 3. Academic Press, London. pp. 2359-2365.

FAO/WHO (2000): Joint FAO/WHO Expert Consultation on Risk Assessment of Microbiological Hazards in Foods. FAO, Food and Nutrition Paper No. 71. ISBN 92-5-104477-5. p. 47.

Filiouis, G., Anders, J., Joachim, F., Vincent, P. (2009): Prevalence, genetic diversity and antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from open-air food markets in Greece, Food Control, 20. pp. 314-317.

Fleet, G.H. (1992): Spoilage yeasts. *Crit. Rev. Biotechnol.* 12, pp. 1-44.

García-Linares, M.C., Gonzalez-Fandos, E., García-Fernández, M.C., García-Arias, M.T. (2004): Microbiological and nutritional quality of sous vide or traditionally processed fish: Influence of fat content. *Journal of Food Quality.* 27, pp.371–387

Gaze, J.E., Brown, G.D., Gaskell, D.E., Banks, J.G. (1989): Heat resistance of *Listeria monocytogenes* in non-dairy menstrea. Technical Memorandum No. 523. Campden Food and Drink Research Association, Chipping Campden, Gloucestershire, UK.

Ghazala, S., Aucoin, J., Alkanani, T. (1996): Pasteurization effect on fatty acid stability in a sous vide product containing seal meat (*Phoca groenlaccica*). *Journal of Food Science.* 61, pp. 520–523.

González, E., Fandos, A., Villarino-Rodríguez, M.C., García Linares, M. C., García-Arias, M.T. García Fernández, M.C. (2005): Microbiological safety and sensory characteristics of salmon slices processed by the sous vide method. *Food Control.* 16, pp. 77–85.

Greenwood, M.H., Roberts, D. Burden, P. (1991): The occurrence of *Listeria* species in milk and dairy products: a national survey in England and Wales. *Int. J. Food Microbiol.* 12, pp. 197-206.

Guerra, M., McLauchin, J., Bernardo, F.A. (2001): *Listeria* in ready-to-eat and unprocessed foods produced in Portugal, *Food Microbiol.* 18. pp. 423-429.

Guyer, S., Jemmi, T. (1991): Behavior of *Listeria monocytogenes* during fabrication and storage of experimentally contaminated smoked salmon. *Appl. Environ. Microbiol.* 57, pp. 1523-1527.

Halpin-Dohnalek, M.I., Marth, E.H. (1989): *Staphylococcus aureus*: production of extracellular compounds and behavior in foods : a review. *Journal of Food Protection,* 52, pp. 267-282.

Heldman, D.R., Hartel, R.W. (1997): *Principles of Food Processing,* Chapman and Hall, New York. pp. 13-33.

- Hesser, A.* (2005): Under Pressure. New York Times, August 14.
- James, S.A, Stratford, M.* (2011): *Zygosaccharomyces* Barker 1901. In Kurtzman et al. (ed.) (2011): *Yeasts, A Taxonomic Study*. pp. 937-947.
- James, S.A, Stratford, M.* (2003): Spoilage yeasts with emphasis on the genus *Zygosaccharomyces*. In: Boekhout, T. and Robert, V. (Eds), *Yeasts in food - Beneficial and detrimental aspects*. Woodhead Publishing Ltd. and CRC Press, Cambridge. pp. 171-191.
- Jermini, M.F.G., Schmidt-Lorenz, W.* (1987): Heat Resistance of Vegetative Cells and Asci of Two *Zygosaccharomyces* Yeasts in Broths at Different Water Activity Values. *Journal of Food Protection*. 10, pp. 812-884.
- Kennedy, J., Blair, I.S., McDowell, D.A., Bolton, D.J.* (2005): An investigation of the thermal inactivation of *Staphylococcus aureus* and the potential for increased thermotolerance as a result of chilled storage. *Journal of Applied Microbiology*. 99, pp. 1229–1235.
- Knura, S., Gymnich, S., Rembialkowska, E., Petersen, B.* (2006): Agri-food production chain. In: Luning, P.A., Devlieghere, F., Verh e, R. (eds.) *Safety in the agri-food chain*. Chapter 1, 1966. Wageningen Academic Publishers, The Netherlands.
- K ormendy, I.* (1987): Outline of a system for the selection of the optimum sterilization process for canned foods. *Acta Alimentaria* 16, pp. 3-27.
- Laakkonen, E., Sherbon, J.W., Wellington, G.H.* (1970): Low-temperature, long-time heating of bovine muscle. *Journal of Food Science*. 35. pp. 181-184.
- Lassen, A., Kall, M., Hansen, K., Ovese, L.* (2002): A comparison of the retention of vitamins B1, B2 and B6, and cooking yield in pork loin with conventional and enhanced meal-service systems. *European Food Research and Technology*. 215, pp. 194–199.

Leasor, S.B., Foegeding, P.M. (1988): Growth and inactivation of *Listeria monocytogenes* F5069 and Scott A in liquid whole egg. Institute of Food Technologists Annual Meeting, New Orleans. Abstract p. 168.

Linder, P. (1901): Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben mit einer Einführung in die Hefenreinkultur, Infektionslehre und Hefenkunde. P. Parey, Berlin. pp.1-408.

Lund, B.M., Snowdon, A.L. (2000): Fresh and processed fruits. In Lund, B.M.; Baird-Parker, T.C.; Gould, G.W. (eds.) The microbiological safety and quality of food. Gaithersburg; Aspen Publishers, Inc. pp. 738-758.

Martens, H., Stabursvik, E., Martens, M. (1982): Texture and colour changes in meat during cooking related to thermal denaturation of muscle proteins. Journal of Texture Studies. 13, pp. 291–309.

McGee, H. (2004): On Food and Cooking: The Science and Lore of the Kitchen. Scribner, New York. pp. 148-155.

Mogensen, G., Holm, F. (2003): Food pathogens: A challenge for European policy on food safety, nutritive value and eating quality. Faire-Flow 4 synthesis report. INRA, France.

Morita, J.I., Yasui, T. (1991): Involvement of hydrophobic residues in heat-induced gelation of myosin tail subfragment from rabbit, The Journal of Biochemistry. 116, pp. 215-220.

Mossel, D.A.A., Struijk, C.B. (1991): Public health implication of refrigerated pasteurized (sous-vide) foods. International Journal of Food Microbiology, 13, pp. 187–206.

Mraheil, M.A., Barbuddhe, S., Hain, T., Chakraborty, T. (2013): The Prokaryotes: *Listeria*. 3, pp. 219- 235.

Murphy, R.Y., Duncan, L.K., Berrang, M.E., Marcy, J.A., Wolfe, R.E. (2002): Thermal Inactivation D- and Z-Values of *Salmonella* and *Listeria innocua* in Fully Cooked and Vacuum Packaged Chicken Breast Meat during Postcook Heat Treatment. Poultry Science. 81, pp. 1578–1583.

Nagymajtényi, L. (2001): A toxikoinfekciók járványtana. In: Dési I. (ed.) Népegészségtan, Semmelweis Kiadó, Budapest. 5, pp.133-137.

Norrung, B., Anderson, J.K., Schlundt, J. (1999): Incidence and control of *Listeria monocytogenes* in foods in Denmark, *Int. J. Food Microbiol.*, 53, pp. 195-203.

Ohlsson, T. (1994): Minimal processing–preservation methods of the future: an overview. *Trends in Food Science and Technology*. 5, pp. 341–344.

Ohlsson, T. (2000): Minimal processing of foods with electric heating methods. In Oliveira F.A.R., Oliveira J.C. Boca Raton (eds.) *Processing Foods: Quality Optimisation and Process Assessment*. CRC Press. pp. 97-104.

Pastrorova, I, de Koster, C.G, Boom, J.J. (1997): Analytic Study of Free and Ester Bound Benzoic and Cinnamic Acids of Gum Benzoin Resins by GC-MS HPLC-frit FAB-MS”. *Phytochem Anal.* 8, pp. 63-73.

Peck, M.W., Goodburn, K.E., Betts, R.P., Stringer, S.C. (2006): *Clostridium botulinum* in VacuumPacked (VP) and Modified Atmosphere Packed (MAP) Chilled Foods, Final Project Report (b13006). Technical Report Institute of Food Research.

Pesavento, G., Ducci, B., Nieri, D., Comodo, N., Lo Nostro, A. (2010): Prevalence and antibiotic susceptibility of *Listeria* spp. isolated from raw meat and retail foods, *Food Control*. 21, pp. 708-713.

Polyákné, F.K., Dalmadi, I. (2007): Vákuumfőzött (sous vide) termékek előállítás. In: Balla Csaba, Síró István (szerk): *Élelmiszer-biztonság és minőség II. Élelmiszertechnológiák*. Mezőgazda Kiadó, Budapest. pp. 153-176.

Praphailong, W., Fleet, G.H. (1997): The effect of pH, sodium chloride, sucrose, sorbate and benzoate on the growth of food spoilage yeasts. *Food Microbiology*. 14, pp. 459-468.

Quero, G.M., Santovito, E., Visconti, A., Fusco, V. (2014): Quantitative detection of *Listeria monocytogenes* in raw milk and soft cheeses: Culture-independent versus liquid- and solid-based culture-dependent real time PCR approaches. *LWT - Food Science and Technology*. 58, pp. 11-20.

Ralovich, B., Kovács, S. (1992): Élelmiszerek közvetítette kórokozó baktériumok jellemzése és jelentősége Magyarországon III. Egyéb kórokozó baktériumok. *A Hús*. 2, pp. 98-102.

Raso, J., Calderón, M.L., Góngora, M., Gustavo V., Barbosa-Cánovas, G.V., Swanson, B.G. (1998): Inactivation of *Zygosaccharomyces bailii* in Fruit Juices by Heat, High Hydrostatic Pressure and Pulsed Electric Fields. *Journal of Food Science*. 63, pp. 1042-1044.

Rawsthorne, H., Phister, T.G. (2006): A real-time PCR assay for the enumeration and detection of *Zygosaccharomyces bailii* from wine and fruit juices *International Journal of Food Microbiology*. 112, pp. 1–7.

Read, R.B., Bradshaw, J.G. (1966): Staphylococcal enterotoxin B thermal inactivation in milk. *J. Dairy Science*. 49, pp. 202-203.

Roberts, T.A., Pitt, J.I., Farkas, J., Grau, F.H. (eds). (1998): *Microorganisms in foods 6. Microbial ecology of food commodities. Chapter 5.: Vegetables and vegetable products*, Blackie Academic & Professional, London. pp. 215-251.

Roca, J., Brugués, S. (2005): *La cocina al Sous-Vide Cuisine*. Montagué Editores, S.A. pp. 1-198.

Rocourt, J., Cossart, P. (1997): *Listeria monocytogenes*. In, Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Montville, T.J. (eds.) *Food Microbiology* ASM Press Washington D.C. pp. 337-352.

Rodler, I. (2007): *Élelmezés-higiéné*. Medicina Könykiadó Rt. Budapest. pp. 1-370.

Rodler, M. (2006): *Az élelmiszer-mikrobiológia története*. Budapesti Népegészségügy. 2, pp. 131-142.

Rodrigues, F., Corte-Real, M., Leao, C., Van Dijken, J.P., Pronk, J.T. (2001): Oxygen requirements of the food spoilage yeast *Zygosaccharomyces bailii* in synthetic and complex media. *Applied and Environmental Microbiology*. 67, pp. 2123-2128.

Ryan., K.J., Ray, C.G. (2004): *Sherris Medical Microbiology, An introduction to infectious Diseases 4th*, McGraw Hill Medical Publishing Division pp. 1-979.

Ryser, E.T., Marth, E.H. (1991): *Listeria, Listeriosis and Food Safety*. New York, Marcel Dekker. pp. 1-896.

Schellekens, M., (1996): New research issues in sous-vide cooking. *Trends in Food Science and Technology*, 7:256–262.

Schmid-Hempel, P., Frank, S.A. (2007): Pathogenesis, Virulence, and Infective Dose, *PLoS Pathog.* 3, p. 147.

Scheusner, D.L., Hood, L.L., Harmon, L.G. (1973): Effect of temperature and pH on growth and enterotoxin production by *Staphylococcus aureus*. *J. Milk Food Technol.* 36, pp. 249-252

Seeliger, H.P.R., Jones, D. (1986): Genus *Listeria*. In Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. és Holt, J.G. (eds.) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol 2., p. 1235.

Shafiei, Y., Razavilar, V., Javadi, A. (2011): Thermal Death Time of *Staphylococcus aureus* (PTCC=29213) and *Staphylococcus Epidermidis* (PTCC=1435) in Distilled Water. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. ISSN 1991-8178. 5, pp. 1551-1554.

Sheard, M.A., Rodger, C. (1995): Optimum heat treatments for „sous-vide” cook-chill products, *Food control*. 6, pp. 53-56.

Shimokomaki, M., Eisdén, D.F., Bailey, A.J. (1972): Meat tenderness: age related changes in bovine intramuscular collagen. *Journal of Food Science*. 37, pp. 892–896.

Singer, R.S., Cox, L.A., Dickson, J.S., Hurd, H.S., Phillips, I., Miller, G.Y. (2007): Modeling the relationship between food animal health and human foodborne illness. *Preventive Veterinary Medicine*. 79, pp. 186–203.

Sousa, M.J, Miranda, L., Corte-Real, M., Leao, C. (1996): Transport of acetic acid in *Zygosaccharomyces bailii*: Effects of ethanol and their implications on the resistance of the yeast to acidic environments. *Applied and Environmental Microbiology*. 62, pp. 3152-3157.

Sperber, W.H. (1989): Influence of water activity on foodborne bacteria A review. *J. Food Protect.* 46, pp. 142-150.

Splitstoeser, D.F. (1987): Fruits and Fruit Product. In Beuchat, L.R. (ed.) *Food and Beverage Mycology*. Van Nostrand Reinhold Company Inc., New York. pp. 101-128.

Splitstoeser, D.F., Leasor, S.B., Swanson, K.M.J. (1986): Effect of food composition on the heat resistance of yeast ascospores. *J. Food Sci.* 51, pp. 1265-1297.

Stefanovitsné, B.É., Duducz, Gy., Fehér, I. (2004): *Biokémia Jegyzet, Biokémiai alapismeretek*, Somogy Print Bt. pp. 17-18.

Szabó, M. (2000): Magyarország élelmiszerbiztonsági helyzete az ezredfordulón. Az Élelmiszer-biztonsági Tanácsadó Testület felmérése

Szabó, M., Rodler, I. (2001): Az élelmiszerbiztonság helyzete és a javítást célzó nemzeti és nemzetközi stratégiák. *Egészségtudomány*, 44, 199-211.

Szeitzné Szabó, M. (szerk.) (2008): *Élelmiszer-biztonsági helyzetelemzés és kockázatértékelés*. Agroinform Kiadó, Budapest. p. 7.

Tatini, S.R. (1973): Influence of food environments of growth of *Staphylococcus aureus* and production of various enterotoxins. *J. Milk Food Technol.* 36, p. 474.

This, H. (2006): *Molecular Gastronomy Exploring the science of flavor*, Columbia University Press. p. 171.

Thomas, D.S., Davenport, R.R. (1985): *Zygosaccharomyces bailii* a profile of characteristics and spoilage activities. *Food Microbiology* 2, pp. 157-169.

Thumel, H. (1995): Preserving meat and meat products Possibilities and methods–in: *Fleischwirtsch.* 5, p. 75.

Tornberg, E. (2005): Effect of heat on meat proteins implications on structure and quality of meat products, *Meat Science.* 70, pp. 493–508.

Török, T., King, A.D.Jr. (1993): Thermal inactivation kinetics of food-borne yeasts. *J. Food Sci.* 56, pp. 6-59.

Tudor, E.A., Board, R.G. (1993): Food-Spoilage Yeast. In Rose A.H., Harrison, J.S. (eds.) *The Yeasts*, 2nd ed., *Yeast Technology*, Academic Press, London. 5, pp. 435-516.

USDA, FSIS. (1990): Recommendations of the National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods for Refrigeration foods containing cooked, uncured meat or poultry products that are packaged for extended refrigerated shelf life and that are ready-to-eat or prepared with little or no additional heat treatment. *USDA, FSIS*, Washington D.C. pp. 1-20.

Vaudagna, S.R., Sánchez, G., Neira, M.S., Insani, E.M., Picallo, A.B., Gallinger, M.M., Lasta, J.A. (2002): Sous vide cooked beef muscles: Effects of low temperature-long time (LTLT) treatments on their quality characteristics and storage stability. *International Journal of Food Science and Technology.* 37, pp. 425–441.

Vingataramin, L., Frost, E.H. (2015): A single protocol for extraction of gDNA from bacteria and yeast. *Biotechniques.* 58, pp. 120-125.

Walsh, P.S., Metzger, D.A., Higuchi, R. (1991): Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *BioTechniques.* 10, pp. 506-513.

Warth, A.D. (1991): Mechanism of action of benzoic acid on *Zygosaccharomyces bailii*: effects on glycolytic metabolite levels, energy production, and intracellular pH. *Appl. Environ. Microbiol.* 57, pp. 3410-3414.

Weis, J., Seeliger, H.P.R. (1975): Incidence of *Listeria monocytogenes* in nature. *Appl. Microbiol.* 30, pp. 29-32.

Mason, W.J., Blevins, J.S., Beenken, K., Wibowo, N., Ojha, N., Smeltzer, M.S. (2001): Multiplex PCR Protocol for the Diagnosis of Staphylococcal Infection. *J. Clin. Microbiol.* 39, pp. 3332-3338.

WHO (1998): Surveillance Programme for Control of Foodborne Infections and Intoxications. pp. 1-480.

WHO (2002): Emerging foodborne diseases Fact sheet N°124 Revised January in Europe Newsletter 57, pp. 5-6.

WHO (2007): Food safety and foodborne illnesses, Fact sheet N°237, Reviewed March. pp. 1-4.

Zhou, X., Jiao, X. (2006): Prevalence and lineages of *Listeria monocytogenes* in Chinese food products, *Lett. Appl. Microbiol.* 43. pp. 554-559.

Zsarnóczay, G., Körmendy, L., Dudás, E., Mihályi, GY. (1988): Exportkészítmények hőkezelés szükségletének vizsgálata. *Húsipar* 37, pp. 74-77.

Törvények, rendeletek, szabványok

4/1998. (XI.11.) EüM. rendelet: *Az élelmiszerekben előforduló mikrobiológiai szennyeződések megengedhető mértékéről.*

178/2002/EK rendelet (2002. január 28.): *Az Európai Parlament és a Tanács rendelete az élelmiszerjog általános elveiről és követelményeiről, az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság létrehozásáról és az élelmiszerbiztonságra vonatkozó eljárások megállapításáról.*

2003. évi LXXXII. törvény (VII. 29.): *Az élelmiszerekről.*

2005. évi CLIX. törvény *egyes élelmiszer-biztonsággal kapcsolatos törvények módosításáról.*

Európai Parlament és a Tanács 95/2/EK irányelve (1995. február 20.): *A színezékeken és édesítőszeren kívüli egyéb élelmiszer-adalékanyagokról.*

2073/2005/EK rendelet (2005. november 15.): *Az élelmiszerek mikrobiológiai kritériumairól.*

2008. évi XLVI. törvény (VII. 2.): *Az élelmiszerláncról és hatósági felügyeletéről. Az emberek biztonságos élelmiszerral történő ellátásához a teljes élelmiszerlánc egységes és folyamatos hatósági felügyeletének biztosítása.*

MSZ EN ISO 6579:2006: *Élelmiszerek és takarmányok mikrobiológiája. Horizontális módszer a szalmonellafajok kimutatására.*

MSZ EN ISO 11290:1996/A1:2005: *Listeria monocytogenes jelenlét/hiány kimutatása. Tenyésztéses módszer*

MSZ EN ISO 7937:2005: *Élelmiszerek és takarmányok mikrobiológiája. Horizontális módszer a Clostridium perfringens-szám meghatározására. Telepszámlálós módszer*

MSZ ISO 16649-2:2005: *Élelmiszerek és takarmányok mikrobiológiája. Horizontális módszer a β -glükuronidáz-pozitív Escherichia coli megszámlálására. 2. rész: Telepszámlálási technika 44 °C-on 5-bróm-4-klór-3-indolil- β -D-glükuroniddal*

ASU L 06.00-32:1992-06: *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 00.00-55:2000: *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 06.00-18:1984-05: *Untersuchung von Lebensmitteln; Bestimmung der aeroben Keimzahl bei 30 °C in Fleisch und Fleischerzeugnissen; Spatel- und Plattengußverfahren (Referenzverfahren)*

Internetes források:

URL¹: http://culinartist.blog.hu/2008/03/07/mi_az_a_sous_vide

URL²: http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/2011_0001_521_Novenyi_nyersanyagok_feldolgozastechnologiai/ch02s02.html

URL³: <http://www.wiselady.hu/2009/03/sous-vide-hosszu-fozes-vakuum-alatt.html>

MELLÉKLETEK

1. melléklet

Modell közegben (Caso leves) hőkezelt *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T törzs túlélő sejtszámainak logaritmusai

Kontroll minták

Hőntartási idő (perc)	Hőntartás hőmérséklete		
	55 °C	60 °C	65 °C
0	4,67±0,19	4,11±0,21	3,67±0,35
0,5			1,94±0,39
1		3,72±0,33	0,10±0,07
2	4,47±0,24	2,07±0,19	
3		1,05±0,32	
4	4,11±0,25	0,20±0,17	
6	3,34±0,21		
8	2,83±0,41		
10	2,00±0,36		

99%-os vákuumsomagolásban

Hőntartási idő (perc)	Hőntartás hőmérséklete		
	55 °C	60 °C	65 °C
0	5,71±0,20	5,64±0,21	5,10±0,35
0,5			3,51±0,39
1		3,72±0,33	0,40±0,07
2	5,05±0,30	2,43±0,19	
3		1,29±0,32	
4	4,51±0,15	1,00±0,17	
5		0,01±0,01	
6	3,89±0,30		
8	3,66±0,41		
10	2,80±0,36		

Statistikai számítások *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T túlélő sejtszámainak összehasonlítására

55 °C			60 °C			65 °C		
Kétmintás F-próba a szórásnégyzetre			Kétmintás F-próba a szórásnégyzetre			Kétmintás F-próba a szórásnégyzetre		
	Változó 1	Változó 2		Változó 1	Változó 2		Változó 1	Változó 2
Várható érték	4,27	3,57	Várható érték	2,331667	2,23	Várható érték	3,003333	1,903333
Variancia	1,0834	1,0754	Variancia	4,281417	2,82335	Variancia	5,715033	3,187233
Megfigyelések	6	6	Megfigyelések	6	5	Megfigyelések	3	3
df	5	5	df	5	4	df	2	2
F	1,007439		F	1,516431		F	1,793102	
P(F<=f) egyszélű	0,496854		P(F<=f) egyszélű	0,353879		P(F<=f) egyszélű	0,358025	
F kritikus egyszélű	5,050329		F kritikus egyszélű	6,256057		F kritikus egyszélű	19	
Azonos szóráss			Azonos szóráss			Azonos szóráss		
Kétmintás párosított t-próba a várható értékre			Kétmintás párosított t-próba a várható értékre			Kétmintás párosított t-próba a várható értékre		
	Változó 1	Változó 2		Változó 1	Változó 2		Változó 1	Változó 2
Várható érték	4,27	3,57	Várható érték	2,816	2,23	Várható érték	3,003333	1,903333
Variancia	1,0834	1,0754	Variancia	3,64193	2,82335	Variancia	5,715033	3,187233
Megfigyelések	6	6	Megfigyelések	5	5	Megfigyelések	3	3
Pearson-féle korreláció	0,975048		Pearson-féle korreláció	0,951546		Pearson-féle korreláció	0,98612	
Feltételezett átlagos eltérés	0		Feltételezett átlagos eltérés	0		Feltételezett átlagos eltérés	0	
df	5		df	4		df	2	
t érték	7,38686		t érték	2,175509		t érték	2,73607	
P(T<=t) egyszélű	0,000357		P(T<=t) egyszélű	0,047611		P(T<=t) egyszélű	0,055825	
t kritikus egyszélű	2,015048		t kritikus egyszélű	2,131847		t kritikus egyszélű	2,919986	
P(T<=t) kétszélű	0,000715		P(T<=t) kétszélű	0,095221		P(T<=t) kétszélű	0,111651	
t kritikus kétszélű	2,570582		t kritikus kétszélű	2,776445		t kritikus kétszélű	4,302653	
Szignifikáns			Szignifikáns			Nem szignifikáns		

2. melléklet

Darált sertéshúsban hőkezelt *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T
törzs túlélő sejtszámainak logaritmususa

Kontroll minták

Hőntartási idő (perc)	Hőntartás hőmérséklete		
	55 °C	60 °C	65 °C
0	6,70±0,20	6,35±0,21	6,27±0,25
5			5,20±0,31
10	6,52±0,41	6,05±0,29	4,40±0,21
20	6,44±0,30	5,59±0,26	0,10±0,14
30	6,21±0,27	4,87±0,26	
40	6,10±0,21	4,10±0,11	

99%-os vákuumsomagolásban

Hőntartási idő (perc)	Hőntartás hőmérséklete		
	55 °C	60 °C	65 °C
0	6,50±0,20	6,11±0,21	5,50±0,35
3			
5			2,79±0,15
10	6,02±0,31	5,20±0,24	0,60±0,21
20	5,85±0,22	4,18±0,16	
30	5,41±0,16	2,90±0,19	
40	4,90±0,24	0,50±0,34	

Statisztikai számítások *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373^T túlélő sejtszámainak összehasonlítására

55 °C

Kétmintás F-próba a szórásnégyzetre

	Változó 1	Változó 2
Várható érték	5,736	6,394
Variancia	0,37063	0,05798
Megfigyelések	5	5
df	4	4
F	6,392377	
P(F<=f) egyszélű	0,049947	
F kritikus egyszélű	6,388233	

Eltérő szórás

Kétmintás párosított t-próba a várható értékre

	Változó 1	Változó 2
Várható érték	5,736	6,394
Variancia	0,37063	0,05798
Megfigyelések	5	5
Pearson-féle korreláció	0,990131	
Feltételezett átlagos eltérés	0	
df	4	
t érték	-3,95611	
P(T<=t) egyszélű	0,008366	
t kritikus egyszélű	2,131847	
P(T<=t) kétszélű	0,016732	
t kritikus kétszélű	2,776445	

Szignifikáns

60 °C

Kétmintás F-próba a szórásnégyzetre

	Változó 1	Változó 2
Várható érték	3,778	5,392
Variancia	4,78452	0,83292
Megfigyelések	5	5
df	4	4
F	5,744273	
P(F<=f) egyszélű	0,059436	
F kritikus egyszélű	6,388233	

Azonos szórás

Kétmintás párosított t-próba a várható értékre

	Változó 1	Változó 2
Várható érték	3,778	5,392
Variancia	4,78452	0,83292
Megfigyelések	5	5
Pearson-féle korreláció	0,994704	
Feltételezett átlagos eltérés	0	
df	4	
t érték	-2,813	
P(T<=t) egyszélű	0,024085	
t kritikus egyszélű	2,131847	
P(T<=t) kétszélű	0,04817	
t kritikus kétszélű	2,776445	

Szignifikáns

65 °C

Kétmintás F-próba a szórásnégyzetre

	Változó 1	Változó 2
Várható érték	2,963333	5,29
Variancia	6,025033	0,8803
Megfigyelések	3	3
df	2	2
F	6,844296	
P(F<=f) egyszélű	0,127481	
F kritikus egyszélű	19	

Azonos szórás

Kétmintás párosított t-próba a várható értékre

	Változó 1	Változó 2
Várható érték	2,963333	5,29
Variancia	6,025033	0,8803
Megfigyelések	3	3
Pearson-féle korreláció	0,999759	
Feltételezett átlagos eltérés	0	
df	2	
t érték	-2,65699	
P(T<=t) egyszélű	0,058627	
t kritikus egyszélű	2,919986	
P(T<=t) kétszélű	0,117254	
t kritikus kétszélű	4,302653	

Nem szignifikáns

3. melléklet

Modell közegben (Caso leves) hőkezelt *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 törzs túlélő sejtszámainak logaritmus

Kontroll minták

Hőntartási idő (perc)	Hőntartás hőmérséklete		
	55 °C	60 °C	65 °C
0	6,20±0,21	5,96±0,21	5,81±0,21
2			4,20±0,29
3	6,15±0,15	5,00±0,24	
4			1,50±0,23
6	6,10±0,22	4,90±0,26	0,20±0,23
9	5,81±0,11	4,30±0,15	
12	5,8±0,13	3,50±0,27	
15	5,65±0,12	3,00±0,13	

99%-os vákuumcsomagolásban

Hőntartási idő (perc)	Hőntartás hőmérséklete		
	55 °C	60 °C	65 °C
0	6,55±0,29	6,20±0,21	5,77±0,21
2			3,67±0,32
3	6,31±0,11	5,51±0,21	
4			0,05±0,26
6	6,24±0,19	4,57±0,24	
9	6,21±0,14	4,10±0,14	
12	6,08±0,12	3,54±0,17	
15	5,8±0,11	2,20±0,19	

Statistikai számítások *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 törzs túlélő sejtszámainak összehasonlítására

55 °C			60 °C			65 °C		
Kétmintás F-próba a szórásnégyzetre			Kétmintás F-próba a szórásnégyzetre			Kétmintás F-próba a szórásnégyzetre		
	Változó 1	Változó 2		Változó 1	Változó 2		Változó 1	Változó 2
Várható érték	6,198333	5,951667	Várható érték	4,353333	4,443333	Várható érték	3,163333	2,9275
Variancia	0,062137	0,051417	Variancia	2,031507	1,162467	Variancia	8,372133	6,468358
Megfigyelések	6	6	Megfigyelések	6	6	Megfigyelések	3	4
df	5	5	df	5	5	df	2	3
F	1,208493		F	1,747583		F	1,294321	
P(F<=f) egyszélű	0,420223		P(F<=f) egyszélű	0,277498		P(F<=f) egyszélű	0,393299	
F kritikus egyszélű	5,050329		F kritikus egyszélű	5,050329		F kritikus egyszélű	9,552094	
Azonos szórással			Azonos szórással			Azonos szórással		
Kétmintás párosított t-próba a várható értékre			Kétmintás párosított t-próba a várható értékre			Kétmintás t-próba egyenlő szórásnégyzeteknél		
	Változó 1	Változó 2		Változó 1	Változó 2		Változó 1	Változó 2
Várható érték	6,198333	5,951667	Várható érték	4,353333	4,443333	Várható érték	3,163333	2,9275
Variancia	0,062137	0,051417	Variancia	2,031507	1,162467	Variancia	8,372133	6,468358
Megfigyelések	6	6	Megfigyelések	6	6	Megfigyelések	3	4
Pearson-féle korreláció	0,892084		Pearson-féle korreláció	0,970255		Súlyozott variancia	7,229868	
Feltételezett átlagos eltérés	0		Feltételezett átlagos eltérés	0		Feltételezett átlagos eltérés	0	
df	5		df	5		df	5	
t érték	5,360068		t érték	-0,47889		t érték	0,114837	
P(T<=t) egyszélű	0,00152		P(T<=t) egyszélű	0,326114		P(T<=t) egyszélű	0,456522	
t kritikus egyszélű	2,015048		t kritikus egyszélű	2,015048		t kritikus egyszélű	2,015048	
P(T<=t) kétszélű	0,003039		P(T<=t) kétszélű	0,652229		P(T<=t) kétszélű	0,913043	
t kritikus kétszélű	2,570582		t kritikus kétszélű	2,570582		t kritikus kétszélű	2,570582	
Szignifikáns			Nem szignifikáns			Nem szignifikáns		

4. melléklet

Darált sertéshúsban hőkezelt *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 törzs túlélő sejtszámainak logaritmusai

Kontroll minták

Hőntartási idő (perc)	Hőntartás hőmérséklete		
	55 °C	60 °C	65 °C
0	6,63±0,11	6,37±0,21	6,15±0,21
3			4,90±0,14
6			4,20±0,23
9			3,00±0,11
10	6,31±0,17	5,86±0,23	
20	6,04±0,08	5,37±0,16	
30	5,75±0,21	4,70±0,22	
40	5,70±0,15	3,90±0,13	

99%-os vákuumcsomagolásban

Hőntartási idő (perc)	Hőntartás hőmérséklete		
	55 °C	60 °C	65 °C
0	6,25±0,11	6,13±0,21	5,94±0,21
3			3,84±0,14
6			2,59±0,23
9			0,40±0,11
10	5,71±0,21	5,36±0,27	
20	5,55±0,10	4,21±0,12	
30	5,21±0,15	3,41±0,21	
40	5,00±0,13	3,10±0,16	

Statisztikai számítások *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 törzs túlélő sejtszámainak összehasonlítására

55 °C			60 °C			65 °C		
Kétmintás F-próba a szórásnégyzetre			Kétmintás F-próba a szórásnégyzetre			Kétmintás F-próba a szórásnégyzetre		
	Változó 1	Változó 2		Változó 1	Változó 2		Változó 1	Változó 2
Várható érték	5,544	6,086	Várható érték	4,442	5,24	Várható érték	3,1925	4,5625
Variancia	0,23338	0,15253	Variancia	1,65297	0,94135	Variancia	5,376358	1,735625
Megfigyelések	5	5	Megfigyelések	5	5	Megfigyelések	4	4
df	4	4	df	4	4	df	3	3
F	1,53006		F	1,755957		F	3,09765	
P(F<=f) egyszélű	0,34517		P(F<=f) egyszélű	0,299435		P(F<=f) egyszélű	0,188958	
F kritikus egyszélű	6,388233		F kritikus egyszélű	6,388233		F kritikus egyszélű	9,276628	
Azonos szórással			Azonos szórással			Azonos szórással		
Kétmintás párosított t-próba a várható értékre			Kétmintás párosított t-próba a várható értékre			Kétmintás párosított t-próba a várható értékre		
	Változó 1	Változó 2		Változó 1	Változó 2		Változó 1	Változó 2
Várható érték	5,544	6,086	Várható érték	4,442	5,24	Várható érték	3,1925	4,5625
Variancia	0,23338	0,15253	Variancia	1,65297	0,94135	Variancia	5,376358	1,735625
Megfigyelések	5	5	Megfigyelések	5	5	Megfigyelések	4	4
Pearson-féle korreláció	0,984747		Pearson-féle korreláció	0,962397		Pearson-féle korreláció	0,999749	
Feltételezett átlagos eltérés	0		Feltételezett átlagos eltérés	0		Feltételezett átlagos eltérés	0	
df	4		df	4		df	3	
t érték	-10,1277		t érték	-4,05835		t érték	-2,73445	
P(T<=t) egyszélű	0,000268		P(T<=t) egyszélű	0,007685		P(T<=t) egyszélű	0,035836	
t kritikus egyszélű	2,131847		t kritikus egyszélű	2,131847		t kritikus egyszélű	2,353363	
P(T<=t) kétszélű	0,000535		P(T<=t) kétszélű	0,01537		P(T<=t) kétszélű	0,071672	
t kritikus kétszélű	2,776445		t kritikus kétszélű	2,776445		t kritikus kétszélű	3,182446	
Szignifikáns			Szignifikáns			Szignifikáns		

5. melléklet

Modell közegben (Malátakivonat leves) hőkezelt *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T törzs túlélő sejtszámainak logaritmus

Kontroll minták

Hőntartási idő (perc)	Hőntartás hőmérséklete		
	50 °C	55 °C	60 °C
0	6,44±0,21	6,31±0,21	6,21±0,21
1			5,27±0,24
2	6,42±0,24	6,27±0,26	4,32±0,17
3			2,48±0,31
4	6,41±0,35	6,23±0,14	1,90±0,12
6	6,42±0,27	6,19±0,11	
8	6,39±0,15	6,15±0,29	
10	6,38±0,19	6,10±0,22	
12	6,37±0,23	6,00±0,16	

99%-os vákuumsomagolásban

Hőntartási idő (perc)	Hőntartás hőmérséklete		
	50 °C	55 °C	60 °C
0	5,88±0,21	5,64±0,17	5,55±0,18
1			5,13±0,16
2	5,87±0,25	5,48±0,26	3,58±0,37
3			2,22±0,19
4	5,85±0,26	5,43±0,11	0,10±0,13
6	5,84±0,34	5,37±0,15	
8	5,83±0,15	5,35±0,26	
10	5,81±0,19	5,31±0,13	
12	5,8±0,11	5,23±0,22	

Statisztikai számítások *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T törzs túlélő sejtszámainak összehasonlítására

50 °C			55 °C			60 °C		
Kétmintás F-próba a szórásnégyzetre			Kétmintás F-próba a szórásnégyzetre			Kétmintás F-próba a szórásnégyzetre		
	Változó 1	Változó 2		Változó 1	Változó 2		Változó 1	Változó 2
Várható érték	5,84	6,404286	Várható érték	5,401429	6,178571	Várható érték	3,316	4,036
Variancia	0,000867	0,000629	Variancia	0,017548	0,011214	Variancia	4,97373	3,32833
Megfigyelések	7	7	Megfigyelések	7	7	Megfigyelések	5	5
df	6	6	df	6	6	df	4	4
F	1,378788		F	1,564756		F	1,494362	
P(F<=f) egyszélű	0,353221		P(F<=f) egyszélű	0,30014		P(F<=f) egyszélű	0,353302	
F kritikus egyszélű	4,283866		F kritikus egyszélű	4,283866		F kritikus egyszélű	6,388233	
Azonos szórás			Azonos szórás			Azonos szórás		
Kétmintás párosított t-próba a várható értékre			Kétmintás párosított t-próba a várható értékre			Kétmintás párosított t-próba a várható értékre		
	Változó 1	Változó 2		Változó 1	Változó 2		Változó 1	Változó 2
Várható érték	5,84	6,404286	Várható érték	5,401429	6,178571	Várható érték	3,316	4,036
Variancia	0,000867	0,000629	Variancia	0,017548	0,011214	Variancia	4,97373	3,32833
Megfigyelések	7	7	Megfigyelések	7	7	Megfigyelések	5	5
Pearson-féle korreláció	0,948407		Pearson-féle korreláció	0,937582		Pearson-féle korreláció	0,967445	
Feltételezett átlagos eltérés	0		Feltételezett átlagos eltérés	0		Feltételezett átlagos eltérés	0	
df	6		df	6		df	4	
t érték	-152,983		t érték	-41,4796		t érték	-2,45632	
P(T<=t) egyszélű	2,63E-12		P(T<=t) egyszélű	6,57E-09		P(T<=t) egyszélű	0,034984	
t kritikus egyszélű	1,94318		t kritikus egyszélű	1,94318		t kritikus egyszélű	2,131847	
P(T<=t) kétszélű	5,26E-12		P(T<=t) kétszélű	1,31E-08		P(T<=t) kétszélű	0,069968	
t kritikus kétszélű	2,446912		t kritikus kétszélű	2,446912		t kritikus kétszélű	2,776445	
Szignifikáns			Szignifikáns			Szignifikáns		

6. melléklet

Zöldség mixben hőkezelt *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T
törzs túlélő sejtszámainak logaritmusai

Kontroll minták

Hőntartási idő (perc)	Hőntartás hőmérséklete		
	50 °C	55 °C	60 °C
0	6,23±0,11	6,04±0,12	5,93±0,12
1			5,51±0,20
2	6,22±0,08	6,00±0,18	5,20±0,17
3			4,80±0,11
4	6,22±0,15	5,95±0,10	3,90±0,12
6	6,20±0,17	5,91±0,17	
8	6,19±0,12	5,87±0,19	
10	6,19±0,19	5,81±0,12	
12	6,18±0,06	5,81±0,16	

99%-os vákuumsomagolásban

Hőntartási idő (perc)	Hőntartás hőmérséklete		
	50 °C	55 °C	60 °C
0	5,87±0,24	5,69±0,16	5,32±0,14
1			4,49±0,19
2	5,86±0,15	5,64±0,21	3,50±0,12
3			2,71±0,24
4	5,85±0,23	5,63±0,13	2,20±0,21
6	5,85±0,16	5,51±0,17	
8	5,83±0,31	5,50±0,19	
10	5,83±0,17	5,46±0,26	
12	5,81±0,28	5,41±0,11	

Statisztikai számítások *Zygosaccharomyces bailii* NCAIM Y.00954^T törzs túlélő sejtszámainak összehasonlítására

50 °C			55 °C			60 °C		
Kétmintás F-próba a szórásnégyzetre			Kétmintás F-próba a szórásnégyzetre			Kétmintás F-próba a szórásnégyzetre		
	Változó 1	Változó 2		Változó 1	Változó 2		Változó 1	Változó 2
Várható érték	5,842857	6,204286	Várható érték	5,548571	5,912857	Várható érték	3,644	5,068
Variancia	0,000424	0,000362	Variancia	0,010981	0,008024	Variancia	1,62573	0,59797
Megfigyelések	7	7	Megfigyelések	7	7	Megfigyelések	5	5
df	6	6	df	6	6	df	4	4
F	1,171053		F	1,368546		F	2,718748	
P(F<=f) egyszélű	0,426441		P(F<=f) egyszélű	0,356462		P(F<=f) egyszélű	0,178044	
F kritikus egyszélű	4,283866		F kritikus egyszélű	4,283866		F kritikus egyszélű	6,388233	
Azonos szórás			Azonos szórás			Azonos szórás		
Kétmintás párosított t-próba a várható értékre			Kétmintás párosított t-próba a várható értékre			Kétmintás párosított t-próba a várható értékre		
	Változó 1	Változó 2		Változó 1	Változó 2		Változó 1	Változó 2
Várható érték	5,842857	6,204286	Várható érték	5,548571	5,912857	Várható érték	3,644	5,068
Variancia	0,000424	0,000362	Variancia	0,010981	0,008024	Variancia	1,62573	0,59797
Megfigyelések	7	7	Megfigyelések	7	7	Megfigyelések	5	5
Pearson-féle korreláció	0,942323		Pearson-féle korreláció	0,968194		Pearson-féle korreláció	0,947427	
Feltételezett átlagos eltérés	0		Feltételezett átlagos eltérés	0		Feltételezett átlagos eltérés	0	
df	6		df	6		df	4	
t érték	-138,574		t érték	-33,4831		t érték	-5,34094	
P(T<=t) egyszélű	4,76E-12		P(T<=t) egyszélű	2,36E-08		P(T<=t) egyszélű	0,002961	
t kritikus egyszélű	1,94318		t kritikus egyszélű	1,94318		t kritikus egyszélű	2,131847	
P(T<=t) kétszélű	9,52E-12		P(T<=t) kétszélű	4,72E-08		P(T<=t) kétszélű	0,005922	
t kritikus kétszélű	2,446912		t kritikus kétszélű	2,446912		t kritikus kétszélű	2,776445	
Szignifikáns			Szignifikáns			Szignifikáns		