



Élelmiszertudományi Kar

DOKTORI ÉRTEKEZÉS

HÚSOK MIKROBASZENNYEZETTSÉGÉNEK CSÖKKENTÉSE

Készítette:

Luis A. Castillo A.

Témavezetők:

Dr. Kiss István, egyetemi tanár

Dr. Friedrich László, egyetemi docens

**Készült a Budapesti Corvinus Egyetem,
Élelmiszertudományi Karának
Hűtő-és Állattermék Technológiai Tanszékén**

Budapest

2014.

A doktori iskola

megnevezése: Élelmiszertudományi Doktori Iskola

tudományága: Élelmiszertudományok

vezetője: Dr. Felföldi József,
egyetemi tanár, CSc
Budapesti Corvinus Egyetem

Témavezetők: Dr. Kiss István
ny, egyetemi tanár, DSc
Hűtő- és Állatitermék Technológiai Tanszék
Élelmiszertudományi Kar
Budapesti Corvinus Egyetem

Dr. Friedrich László
egyetemi docens, PhD
Hűtő- és Állatitermék Technológiai Tanszék
Élelmiszertudományi Kar
Budapesti Corvinus Egyetem

A doktori iskola- és a témavezető jóváhagyó aláírása:

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

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

A Budapesti Corvinus Egyetem Élettudományi Területi Doktori Tanácsának 2014. március 18-i határozatában a nyilvános vita lefolytatására az alábbi bíráló Bizottságot jelölte ki:

BÍRÁLÓ BIZOTTSÁG:

Elnöke:

Mohácsiné Farkas Csilla, PhD

Tagjai:

Balla Csaba, PhD

Stégerné Máté Mónika, PhD

Incze Kálmán, CsC

Zsarnóczay Gabriella, PhD

Opponensek:

Kiskó Gabriella, PhD

Beczner Judit, CSc

Titkár:

Dalmadi István, PhD

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS.....	6
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	8
2.1. KOMBINÁLT TARTÓSÍTÁS.....	10
2.2. Hűtve tárolás, csomagolás.....	10
2.3. Ionizáló sugárzás	11
2.4. Nagy hidrosztatikus nyomás	13
2.5. Kémiai anyagok alkalmazása	15
3. CÉLKITŰZÉS	19
4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....	20
4.1. Vizsgálati anyagok.....	20
4.2. Csíraszám csökkentési kezelések	20
4.2.1. Az ionizáló sugárzás alkalmazása.....	20
4.2.2. A nagy hidrosztatikus nyomás alkalmazása.....	20
4.2.3. A trinárium-foszfát (TNF) mártóoldatos kezelés	22
4.3. A mikroorganizmusok számának meghatározása.....	23
4.3.1. Mezofil aerob mikroorganizmusok számának meghatározása.....	23
4.3.2. Pseudomonászok számának meghatározása.....	23
4.3.3. Enterobaktériumok számának meghatározása.....	24
4.3.4. <i>Listeria monocytogenes</i> telepszám meghatározás	24
4.3.5. <i>Bacillus cereus</i> spóraszámának meghatározása	24
4.4. Matematikai módszerek a vizsgálati eredmények értékelésére.....	24
5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK	25
5.1. Ionizáló sugárzásos kombináció hatása csirkeszárny eltarthatóságának növelésére.....	25
5.1.1. Az ionizáló sugárzásos kezelés kombináció eredményeinek értékelése.....	30
5.2. Nagy hidrosztatikus nyomás egyedi és nizzinnel kombinált hatása mikroorganizmusokra aprított csirkehúsban és marhahúsban	31
5.2.1. A kezelés hatása a vegetatív baktériumokra.....	31
5.2.2. Kombinált kezelések hatása a <i>Bacillus cereus</i> spórákra.....	35

5.2.3.	A nagy hidrosztatikus nyomás és a nizin kombináció eredményeinek értékelése	38
5.3.	Trinátrium-foszfát hatása csirkeszárny eltarthatóságának növelésére.....	40
5.3.1.	A trinátrium-foszfátos kezelés hatása a mikroorganizmus csoportok szaporodási sebességére és a maximális sejthozamra.....	46
5.3.2.	A trinátrium-foszfát mártó oldatos kezelés hatásának értékelése.....	47
6.	ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	49
7.	ÖSSZEFOGLALÁS	51
8.	SUMMARY	54
10.	MELLÉKLETEK.....	60
	M1: IRODALOMJEGYZÉK.....	60

1. BEVEZETÉS

Az élelmiszerek előállítása sokrétű feladatot jelent mind a nyersanyagtermelők, mind a feldolgozók számára. A lakosság élelmiszerekkel való ellátása a mennyiségi és minőségi követelmények kielégítése mellett az élelmiszerbiztonsági szempontok teljesítését is kötelezően előírja.

Az élelmiszerfogyasztás általános igénye a vegyes táplálkozáson alapszik, ami azt jelenti, hogy a növényi és állati eredetű élelmiszerek alapvető szükségleteket elégítenek ki. Ennek ismeretében mind a nyersanyag, mind a feldolgozott termékek iránt nagy az igény és a kereslet. Ma már a növénytermesztésben és az állattenyésztésben a világ nagyon sok országában kitűnő termésátlagok vannak, de ugyanakkor jelentős veszteségek is ismeretesek, ami helyenként katasztrofális méreteket és nemegyszer éhínséget is okozhat. A fejlődő országokban a tárolási veszteségek átlagosan elérik a 30-35 %-ot, de nem ritka, amikor meghaladják a 40 % értéket is. Ezeket a számokat még további feldolgozási veszteségek is növelik, s így nem jelentéktelenek a gazdasági károk. Ez egyben azt is jelenti, hogy a költségek és természetesen a fogyasztói árak is jelentősek.

Az élelmiszer feldolgozási technológiák célja, beleértve a tárolási módszereket is, olyan eljárások kifejlesztése, amelyek az élelmiszerek eltarthatóságát biztosítják, megőrizve az élelmiszerek jó tulajdonságait, táp- és élvezeti értékét, az említett veszteségeket csökkentik, biztosítva a szükséges mennyiségeket és a megfelelő biztonságot. A kezelési és tartósítási eljárások a biológiai és biokémiai változások sebességét módosítják, amelyek az eltarthatósági időt, az élelmiszer értékét csökkentik, ezzel növelve azok stabilitását, fogyaszthatósági idejét, és emellett csökkentik vagy teljesen megszüntetik a fogyasztó egészségét esetleg veszélyeztető tényezőket is.

Az élelmiszerek között táplálkozástanilag fontosak a különböző húsok. Eltarthatóságuk, stabilitásuk a belső és külső tényezők függvénye. A belső tényezők között szerepel elsősorban kémiai összetételük, szerkezetük, fizikai és biológiai jellemzőik, az ezekből adódó tulajdonságaik. A külső tényezők, amelyek hatással vannak a húsról, elsősorban a hőmérséklet, a légtér gázösszetétele, páratartalma, a jelenlévő mikroorganizmusok és azok száma és még sok más tényező, ami hatást gyakorolhat a húsok stabilitására. A jelenlévő mikroorganizmusok, amelyek a hús mikrobataulását alkotják, valamint a szöveti enzimek, alapvetően meghatározói a biológiai és biokémiai változásoknak. A különböző kezelések, feldolgozások hatása jelentősen megváltoztathatja a húsok tulajdonságait. Ezek a kezelések feloszthatók hagyományos eljárásokra, amelyek sok szempontból kielégítik az igényeket, és újabb kezelési lehetőségekre, amelyek a mai kor igényeit is szem előtt tartják és igyekeznek a várakozásoknak megfelelni.

Az újabb kezelési eljárások messzemenően igyekeznek arra, hogy az élelmiszer minél nagyobb mértékben megfeleljen az élelmiszerbiztonsági követelményeknek és eleget tegyen a gazdaságossági elvárásoknak.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

Az élelmiszerek, élelmiszer-nyersanyagok, és az élelmiszerkészítmények többsége, viszonylag rövid ideig tartható el változás nélkül. A változások kémiai, fizikai, enzimológiai és mikrobiológiai jellegűek. Ennek következtében minőségük megváltozik, megromlanak, fogyasztásra, feldolgozásra alkalmatlanok lesznek. A megtermelt élelmiszerek termelési, feldolgozási, tárolási, stb., veszteségei mellett, a romlás elérheti a 30-35 %-ot. Tápanyagforrásaink mennyiségének csökkenése, az élelmiszerek hozzáférhetőségét erőteljesen befolyásolják. Ezért rendkívüli jelentősége van annak a törekvésnek, hogy az élelmiszerkészleteket minél teljesebb mértékben megőrizzük.

Tápanyagforrásaink közül jelentős szerepe van a fehérjének. Az állati eredetű források között a húsok 100 grammonként 11,0-24,7 g fehérjét, esszenciális aminosavakat, ásványi anyagokat, vitaminokat (jelentős B vitamin forrás) tartalmaznak. A mértékletes húsfogyasztás, (napi 100-200 g) előnyös a táplálkozás szempontjából, és ajánlottak a sovány húsok és a kisebb sótartalmú húskészítmények (Incze, 2000). Táplálkozás szempontjából jelentős élelmiszernek számítanak a húsok és gasztronómiai szempontból is fontosak. Ugyanakkor kémiai összetételüknel fogva nagyon romlékonyak, eltarthatósági idejük nagyon rövid, 4°C tárolási hőmérsékleten baromfihúsnál 2-3, sertéshúsnál 4-5, marhahúsnál 6-7 nap. A romlást elsősorban a mikroorganizmusok okozzák, amelyek mindenütt jelen vannak, a húsok kiváló tápanyagul szolgálnak szaporodásukhoz. Az élelmiszereken nagy számban jelenlévő mikroorganizmusok, a megfelelő szaporodási feltételek mellett gyorsan elszaporodnak és az élelmiszerek romlását okozzák. Alapvető követelmény az élelmiszerekkel szemben, hogy mikrobiológiai szennyezettségük minél kisebb legyen. Nagy kezdeti csíraszám esetén szaporodásuk már az exponenciális szakaszban van, ahol szaporodási sebességük a legnagyobb, s így rövid időn belül elérik a kritikus mikrobaszámot, ami a romlást jelenti. 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, 2006). A nagyobb mikrobaszennyezettség nemcsak a romlás és az ebből származó veszteségek szempontjából lényeges kérdés. Az élelmiszerek mikrobaközösségében mindig előfordulnak betegségkókozó mikroorganizmusok is. A statisztikai adatok alapján megállapították, hogy ezek az állati eredetű élelmiszerekkel kerülnek az élelmiszerláncba. Vágóhidra mindig az egészséges állatok kerülnek, és az állat vágásakor az állategészségügyi ellenőrzés biztosítja, hogy az esetleges veszélyforrás valószínűsége ki legyen zárva. Ennek ellenére mégis megjelennek patogén mikrobák, és az élelmiszereredetű humán

megbetegedések többsége az állati eredetű élelmiszerektől származik. A tapasztalat azt mutatja, hogy nagy mikrobaszennyezettségnél a betegségkókozó mikrobák előfordulási gyakoriságának valószínűsége nagyobb.

A vágásra kerülő állatok testfelületén nagyon sokféle mikroorganizmus van, ezért azok szállítása, vágása, zsigerelese, darabolása különös technológiai előírásokat és technológiai fegyelmet igényel. A húsok mikrobiológiai szennyezettsége jó gyártási gyakorlat (GMP) és jó higiéniai gyakorlat (GHP) esetén nem haladja meg a $10^3 - 10^4$ grammonkénti értéket. A mindennapi gyakorlatban azonban ez az érték nagyobb. A vágás után szükséges a hús gyors lehűtése 4°C hőmérsékletre, darabolása, feldolgozása pedig kisebb, mint 8°C hőmérsékleten kell, hogy történjék. A jelenlévő mikrobaközösségből ebben a hőmérséklet tartományban elsősorban a hidegtűrő mikroorganizmusok (*Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter/Moraxella*, *Brochothrix thermosphacta*, stb.) kerülnek előnybe és határozzák meg a mikrobatársulás összetételét. Természetes, hogy a mikrobák környezeti igényei között nemcsak a hőmérséklet, hanem más tényezők is, szubsztrátum, vízáktivitás, pH, stb., az élelmiszer belső és a külső ökológiai tulajdonságai fontos szerepet játszanak abban, hogy a szennyező mikroorganizmusok szaporodjanak (Gould, 2000), romlást okozzanak, és mellettük a betegségkózó is jelen legyenek. A mikrobiológiai romlás a húsoknál 10^7 g^{-1} szennyezettségnél szag formájában jelentkezik, 10^8 g^{-1} értéknél már nyálkásodás is van. Ezek a változások a mikrobák anyagcseretermékeinek a következménye, ezeket a reakciótermékeket (észterek, savak, aminok, szulfidok, nyálka, stb.) a hús glikolízisének keletkező vegyületekből, glükóz, aminosavak, tejsav, stb. állítják elő (Lambert et al. 1991).

A húsok eltarthatóságának növelése céljából elsősorban a mikroba szempontjából fontos környezeti tényezőket kell figyelembe venni, és azokat úgy alakítani, hogy hatásuk az alkalmazni kívánt technológiában minél jobban érvényesüljön. A hatékonyság fokozása érdekében pedig olyan fizikai- és kémiai eljárásokat, valamint ezek kombinációját kell alkalmazni, amelyek biztosítani tudják az eltarthatóság növelését a húsok minél teljesebb tápértékének és élvezeti értékének megőrzése mellett.

A húsok eltarthatóságának növelésére több ezer éve ismert a szárítás és a sózás. Ezek az eljárások ma is alkalmazásra kerülnek, sokszor más kezelésekkal együtt. Különböző húskészítményeknél általánosan ismert ezeknek valamilyen kombinációja. A hőkezelés, a hűtés és a fagyasztás ugyancsak jól ismert technológia a húsiparban. Dolgozatomban az ionizáló sugárzás, a nagy hidrosztatikus nyomás, és a vegyszeres kezelések közül a trinátrium-foszfát mártó oldatos kezelést és ezek kombinációját a csomagolással és a hűtéssel vizsgáltam húsok csíraszám

csökkentésének céljából az eltarthatóság növelése érdekében. A dolgozatban ezért elsősorban az ezekkel kapcsolatos szakirodalmat kívánom bemutatni.

2.1. Kombinált tartósítás

Az élelmiszerek tárolhatóságának növelése érdekében, ma egyre nagyobb az igény olyan eljárások alkalmazására, amelyek teljes értékükben biztosítják azok táp- és élvezeti értékét az élelmiszer-biztonság mellett. Ez azt jelenti, hogy a célként kitűzött tárolási idő növelésén és a garantált biztonságon túl komoly minőségi igényeknek is eleget kell tenni. A különböző kezelések optimális hatásait kell úgy társítani, hogy azok az élelmiszerekkel szemben támasztott követelményeknek és a technológia alkalmazás gazdaságossági igényeinek megfeleljenek. Az élelmiszerek mikrobaközösségében lévő mikroorganizmusok érzékenysége a különböző kezelésekkel, tartósítási eljárásokkal szemben eltérő, ami azt jelenti, hogy a pusztulásuk mértéke a kezelések hatásspektrumától függően különböző. Ebből adódik, hogy a különböző mikroorganizmusokkal szemben más-más nagyságú kezelést, akadályt, vagy akadályokat kell alkalmazni, ami azután lehetővé teszi az ott lévő mikrobák pusztulását vagy hatékony gátlását. Ez az „akadályelv” megvalósítása, amikor a kezeléseket egyidejűleg vagy egymást követően alkalmazzák (Leistner, 2000). A fizikai és a kémiai kezelések, illetve ezek kombinációja akkor a legsikeresebb, ha mindegyikből csak a szükséges kezelési mennyiséget (dózis, koncentráció) alkalmazzák, ami akkor lehetséges, ha a kezelések egymás hatását segítik, azaz a hatás szinergens. A mikrobiológiai stabilitás mellett, ideértve a betegségkókozó mikroorganizmusokkal szemben támasztott kritériumokat is, az élelmiszer a minőségi igényeket is ki kell, hogy elégítse. Ma már a kombinált kezelések alkalmazásával, a „minimal processing” igény teljesítése sikeresnek mondható.

2.2. Hűtve tárolás, csomagolás

Ebben a kombinációs rendszerben komoly szerepe van a hőelvonásnak, amit sok kezeléssel társítanak. A romlás során kémiai reakciók sorozata megy végbe az élelmiszerben. Ezek közé tartozik a mikrobák szaporodása is. A sejt felépítés, mint kémiai reakció, a hőmérséklet függvénye. Így a hőmérséklet csökkentésével a szaporodás sebessége mérsékelhető, vagy a lappangási idő meghosszabbítható lesz, és ennek következtében az eltarthatósági idő megnövelhető. A fagyasztás, mint tartósítási technológia, a húsok kombinációs kezelésénél is szóba jöhet, de tudomásul kell venni, hogy az nem mikrobaölő hatású. Az életfolyamatok a fagyasztva tárolásnál gyakorlatilag teljesen lelassulnak, megszűnnek, s a mikroba pusztulás csak a sérült sejteknél következik be, ami nagyon kismértékű, ez 30 naponként 0,1 logaritmus nagyságrend csökkenést jelent. Egy másik oka itt a csíraszám csökkenésnek (pusztulás), hogy a sejtekből kifagyott víz következtében a citoplazma besűrűsödik, s a nagyobb ozmózis nyomás következtében denaturálódik a fehérje. Ez is kismértékű

sejtszám csökkenést okoz. A fagyasztás következtében az egyéb kémiai reakciók sebessége (pl. avasodás) is jelentősen csökken.

Az élelmiszerek kombinált kezelésénél a csomagolás egy másik gyakori partner. A csomagolás, illetve a csomagolóanyag kizárja az élelmiszer szennyeződését kémiai, fizikai, és mikrobiológiai szempontból. A csomagolóanyag tulajdonságai nagyon fontosak, mind a cél (gáz-, nedvesség-záró, és -áteresztő, jól zárható, mechanikai igénybevételre jól tűrő), mind a csomagolás technológia szempontjából. A mikrobatársulásokban a mikroorganizmusoknak különböző az oxigén igénye. Az aerob mikrobák szaporodásához nélkülözhetetlen az oxigén, mások csak kis koncentrációt igényelnek szaporodásukhoz, és vannak, amelyekre káros hatású. Az élelmiszerek külső környezeti tényezői közül ennek megváltoztatása egyértelműen hatással van az ott lévő mikroorganizmusok tevékenységére (Gould, 2000). A zárt rendszerben a légtér gázösszetétele, annak módosítása után, egyes mikroba csoportokat metabolikus tevékenységükben előnybe helyez, másokat pedig gátol. Ez a változás természetesen hatással van az élelmiszerre is, megváltoztathatja néhány tulajdonságát a létrehozott gázatmoszférában az élelmiszerre nézve előnyösen vagy hátrányosan. Vákuum-csomagolásnál például a levegő elvonásával az oxigén koncentráció nagyon kicsi lesz, ami például a hús romlását nagymértékben okozó aerob Gram-negatív baktériumok szaporodását gátolja. Ugyanakkor kedvez a fakultatív aerob tejsavbaktériumoknak, az anaeroboknak, stb. A szén-dioxid előnyben részesíti az anaerobokat, de itt figyelembe kell venni, hogy ezek generációs ideje nagyobb, mint más baktériumoké, ezzel egyidejűleg a szén-dioxid az élelmiszer folyékony fázisában (pl. hús nedves felülete) oldódik és így csökken a felületi pH, ami újabb akadályt jelent sok mikrobának (Farber et al. 1990). Az oxigén koncentráció növelése, esetleg nitrogénnel való dúsítása további szelekciót okoz a jelenlévő mikrobatársulásban. Szem előtt kell tartani a parciális oxigén koncentrációt, ami a mioglobinnak a színében változásában játszik szerepet. Nagy oxigénkoncentráció a hús élénkpiros színét (oxi-mioglobin) (Church, 1994) biztosítja, ugyanakkor számítani kell az avasodásra. A szén-dioxidot általában 20%-nál nagyobb koncentrációban alkalmazzák. Itt is számításba kell venni a mikroorganizmusok kölcsönhatásait. Technológiai szempontból a vákuum-csomagolás más kezeléssel kombinálva mutatkozik a legegyszerűbb eljárásnak (Kiss et al. 1994). Ma már az élelmiszerek sokoldalú igényt kielégítő csomagolása könnyen megoldható.

2.3. Ionizáló sugárzás

A viszonylag új tartósítási eljárások között kell megemlíteni az ionizáló sugárzás alkalmazását. A gyakorlati bevezetés lehetősége már a múlt század elején napirendre került. A gyors fejlődés azonban az 1940-es évek második felében indult meg. Kiterjedt kutatás folyt az Egyesült Államokban, Európa több országában és Japánban. Rövid időn belül bebizonyosodott,

hogy mind az állati, mind a növényi élelmiszerek eltarthatósága besugárzással megnövelhető. Ezt részben a romlást és betegséget okozó mikroorganizmusok elpusztításával, rovarmentesítéssel, részben a növényi eredetű élelmiszerek fiziológiai tulajdonságainak módosításával lehetett magyarázni. A széleskörű kutatások kiterjedtek a nagy sugárforrások tervezésére és építésére is. Az 1970-1990 időszakban a sugárkezelt élelmiszerek ártalmatlanságával folytak széleskörű kutatások sikeresen. Ma már több mint hetven nagy kapacitású élelmiszerbesugárzó üzem működik a világon 55 országban és figyelemreméltó számban (25) épülnek újabbak. 2005-ben 404.804 tonna besugárzott élelmiszer került forgalomba négy régióban, Ázsia és Óceánia, Amerika, Európa és Afrika, Ukrajna és Izrael (Farkas and Mohácsi-Farkas, 2011).

Az ionizáló sugárzások közül az élelmiszerek kezelésére a kobalt-60 radioaktív izotópot, az elektron- és a röntgen-sugárzást alkalmazzák. A Co-60 energiája 1,1-1,3 MeV, az elektronsugárzásnál 10 MeV energiájú sugárzást használnak, és a Rtg sugárzás megengedett maximális energiája 5 MeV lehet. Ezek az energiaszintek biztosítják, hogy az élelmiszer nem lesz radioaktív. A radioaktivitás legalább 13 MeV energiájú sugárzásoknál jöhet létre, ennél kisebb energiáknál, néhány elemnél rendkívül rövid ideig tartó sugárzás észlelhető, ami viszont elhanyagolható. A sugárzásos kezelésnél az energia mennyisége (dózis) abszorbeálódik az anyagban, s ez fizikai és kémiai változásokat hoz létre. Ebből következik, hogy elsősorban az alkalmazott dózis nagyságától más és más hatásokat lehet elérni akár mikrobiológiai, akár kémiai vonatkozásban (kihajtásgátlás, rovartelenítés, raducidálás, radurizálás, stb.). Fontos, hogy az elnyelt dózis homogén eloszlású legyen az adott élelmiszerben, az egyenletes hatás szempontjából, amit a D_{max}/D_{min} hányadossal fejeznek ki, ez a gyakorlatban 1,3 körül lehet. Az élelmiszer és a besugárzás környezeti körülményei hatással vannak az eredményekre, így a víz, az oxigén, a hőmérséklet, stb. A víznek különös szerepe lehet, mivel a víz radiolízisének keletkező szabadgyökök kémiai affinitása nagy. Ezek előnyt, de hátrányt is jelenthetnek, ezeket a besugárzási technológiáknál figyelembe kell venni (a besugárzással kombinált eljárásoknál, levegő kizárása, fagyasztás, hőkezelés, stb.).

A húsok romlásának leggyakoribb oka a mikroorganizmusok tevékenysége. A romlásokozók többsége elsősorban Gram-negatív pálcika alakú baktérium, amelyeknek sugárérzékenysége nagy, a D_{10} értékek 0,1-0,4 kGy között vannak, ennél ellenállóbbak a tejsavbaktériumok, a kokkusok és a baktérium spórák (Ingram and Farkas, 1977; Kovács-Domján et al., 1986; Kiss et al., 2001). Az ionizáló sugárzás közvetett és közvetlen hatású lehet a mikroorganizmusokra. A közvetett hatás például a citoplazma membrán permeabilitását változtatja meg, károsítja vagy inaktíválja az enzimeket és egyéb sejt alkotókat, megzavarja az anyagcsere folyamatokat, a közvetlen hatás pedig a DNS károsodása. A húsban az esetleg előforduló paraziták érzékenyek és kis dózissal már biztonsággal elpusztíthatók. A betegségek okozó mikroorganizmusok, amelyek jelen lehetnek a

húsokban, általában sugárérzékenyek, néhány kivételtől eltekintve, de ezek száma a romlás-
okozókhöz viszonyítva kisebb. A sugárkezelés egyik előnye, hogy besugárzáskor a termék
hőmérséklete gyakorlatilag nem változik (hőkárosodás nincs), 10 kGy dózisonál, víznél, nagy
víztartalmú élelmiszereknél a hőmérsékletemelkedés 0,6 °C, száraz fehérjéknél pedig 2,6 °C, idegen
anyag nem kerül az élelmiszerbe (vegyszermentes kezelés), és a hatás a mikrobákra csomagolt
állapotban (pl. műanyagok, stb.) is érvényesül. A besugárzással például a húsok kezdeti csíraszám
viszonylag már kis dózissal is több nagyságrenddel csökkenthető, és ezzel a tárolási idő jelentősen
növelhető (Kiss és Zachariev, 1981; Kiss et al. 1990; Kiss et al. 1998).

Az 1970-1990-es évek során folytatott besugárzott élelmiszerek ártalmatlansági, toxikológiai
vizsgálatai kedvezően ítélték meg a besugárzást, azonban 10 kGy-ben maximálták az alkalmazható
dózist, később ezt módosították 30 kGy-re. Ezt követően megállapították, hogy sem toxikológiai,
sem táplálkozástani szempontból veszély nem áll fent, a maximális dózist a technológiai
szempontból szükséges minimális technológiai dózis határozza meg. 1983-ban elkészült a Codex
Alimentarius élelmiszer besugárzásra, technológiára és a besugárzó berendezésekre vonatkozó
nemzetközi szabványa, amit legutoljára 2011-ben módosítottak (ISO/TC34/SC ISO14470:2011).
Az Európai Unió Élelmiszertudományi Bizottsága a besugárzásra kerülő élelmiszereket 1998-ban
17 csoportba osztotta és meghatározta az alkalmazható maximális dózisokat (Vounakis, 2001).
Ezek az értékek azóta nem módosultak. Az Egyesült Államokban a törvény a baromfi-hús patogén
mikrobáktól való mentesítését 3 kGy dózisban maximálta, a hűtött húsokét 4,5 és a fagyasztott
húsokét pedig 7 kGy dózisban állapította meg (Pauli 2007).

2.4. Nagy hidrosztatikus nyomás

Az újabb élelmiszertartósítási eljárások közé tartozik a nagy hidrosztatikus nyomás
alkalmazása. A technika alkalmazásának ismerete tulajdonképpen nem új, mivel már 1899-ben Hite
a tej és a hús eltarthatóságának növelésére megpróbálta alkalmazni 2400-3400 atmoszféra
nyomáson. A vizsgálatok alapján megállapították, hogy a kezelés mikrobaszám csökkentő hatású, a
mikrobákat elpusztítja. A nyomástűrő mikroorganizmusokat (0,4-0,6 MPa) barodurans, a nagy
nyomástűrőket (1 MPa) barofil mikrobáknak nevezik. Meg kell jegyezni azonban, hogy ezek
atmoszférikus nyomáson nőnek a legjobban. A nagy hidrosztatikus nyomás jellegzetessége, hogy a
közegben a hatás minden irányban idővesztés nélkül, egyenletesen érvényesül (izosztatikus). A
nagy nyomás ipari alkalmazása ismert a kerámia iparban, az acél- és keményfém ötvözetek
előállításánál és más területeken. Az élelmiszeripari alkalmazás bevezetésének egyik akadály
a nagy nyomás alkalmazásának technikai megoldása. Az 1960-as évektől újabb kutatások
indultak ezen a területen. Az első gyakorlati megvalósítás Japánban történt 1990-ben (Norton and
Da-Wen Sun, 2008).

A nagy hidrosztatikus nyomást előállító készülék egy zárt csőben mozgó dugattyú, amely a nyomást a csőben lévő folyadékra közvetíti. A nyomás lehet közvetlen, ha például gyümölcslevet kezelnek, vagy közvetett, amikor valamilyen közvetítő folyadékra, sok esetben ez víz, alkoholos oldat, szilikon olaj, stb., illetve a benne flexibilis csomagolásban lévő élelmiszerre hat a nyomás. A nyomáskezelés 100-1000 MPa nyomás tartományban történik. A nagy hidrosztatikus nyomás kezelés (High Hydrostatic Pressure, HHP) egyik jelentős előnye, hogy az energia átvitel a termékben nagyon kis hőmérsékletváltozást okoz, 100 MPa mintegy 4 °C hőmérsékletemelkedést eredményez, tehát az élelmiszerben hőkárosodás nem észlelhető. A nyomás kezelés időtartama, ami növelheti a hatás nagyságát, néhány perctől hosszabb időt is igénybe vehet, mint kezelési technológia. A nyomást követő dekompresszió után, a kezelés akár többször is megismételhető. Ugyanakkor a kezelés alatt, egyidejűleg vagy egymást követően más eljárás, pl. besugárzás, vagy hőkezelés is alkalmazható 0-100 °C között, néhány másodpercen belül, akár 20 percig is. A kezelés hatása természetesen környezeti vagy akár mérsékeltén megnövelt hőmérsékleten is érvényesül. A nyomás hatására a termékben reverzibilis térfogatcsökkenés történik, ez 15-20 %, ami a kémiai reakciók sebességét befolyásolja, a nyomás megszűnése után azonban az eredeti térfogat visszaáll. Az ismétlődő, pulzáló nyomásváltozásnak is van hatása a mikroorganizmusokra. Megállapították, hogy a kezelés csak a nem-kovalens kötésekre hat, és ennek következtében az élelmiszerek íz-, színanyagait és tápanyag-tartalmát gyakorlatilag nem befolyásolja (Kiss, 1999). A nagy nyomás fehérje denaturálódást okozhat, megváltozik a biopolimerek gélesedési tulajdonsága (Farkas, 1997), az enzimek reverzibilisen denaturálódnak 100-300 MPa-nál és nagyobb, mint 300 MPa nyomásnál ez a változás irreverzibilis. A nagy hidrosztatikus nyomás az élelmiszerek néhány technológiai tulajdonságát javíthatja (Hoover et al., 1989).

A mikroorganizmusok nyomás-érzékenysége között nagy különbségek vannak. A Gram-negatív mikrobák 150-300 MPa nyomásnál már jelentős pusztulási arányt mutatnak, ezt követik a mikrokokkusok, és más Gram-pozitív baktériumok. Figyelemre méltó eredménynek kell tekinteni, hogy szeletelt hátszín szalmonella szennyezettségét 4,5 nagyságrenddel csökkentették 450 MPa nyomáson (de Alba et al. 2012). A baktérium spórák rezisztenciája a nyomással szemben is igen nagy, meghaladja a 800 MPa értéket. Ugyanakkor érdekes hatás, hogy a nyomás (30-100 MPa) a dormans baktériumok csírázását hasonlóan, mint az ionizáló sugárzás, sőt bizonyos vegyületek is, iniciálhatja (Wills, 1974; Wills and Murrell, 1977; Gould és Sale, 1970; Kiss és Kovács-Prosz, 1981; Patterson, 2005). Ezzel a hatással a spórákat érzékenyíthetik más kezelésekkel szemben, sőt kis nyomást követő nagyobb nyomásokkal jó pusztulási határfokot lehet elérni. Az élesztőgombák viszonylag érzékenyek, s ez a magyarázata, hogy a gyümölcs készítmények tárolhatóságát nagymértékben lehet növelni nagynyomásos kezeléssel. A penészgombákról viszonylag kevés adat áll rendelkezésre, de az a tapasztalat, hogy az aszkospórák rezisztensebbek. A mikotoxinok közül a

patulin 300 és 500 MPa-nál 40-60 %-ban hatástalanítható. Az élelmiszer külső környezeti tényezői közül a szubsztrátum kémiai összetétele, fehérjék, szénhidrátok, lipidek, némelyik kation, és a kis vízáktivitás növeli, a kis pH, élelmiszeradalékok, bakteriocinek csökkentik a spórák rezisztenciáját. A mikroorganizmusok sejtmembránjának irreverzibilis károsodása következtében a sejtmembrán permeabilitás megnő, az anyagcsere folyamatok sérülnek és a citoplazma egy része kiáramlik a sejtéből. A sejttérfogat csökkenése következtében a legtöbb biokémiai reakció mérséklődik, a különböző enzimek reakciói így károsodnak.

Az első ipari berendezés 1990-ben Japánban létesült, 2000-től számuk exponenciálisan nőtt, 2005-ben már 82 üzemelt a világon, ezekben zöldség-, hús- és gyümölcskészítményeket, készételeket kezelnek (Norton and Sun, 2008), 2009-ben már 135 ipari berendezés működött (70 vállalat), az évi össztermelés 1 700 000 tonna volt (Balla et al. 2012). Az EU-ban, amennyiben valamilyen új termék, (pl. HHP kezelt) minősége azonos a már piacon lévővel, akkor azt kezelni lehet a nemzeti előírások szerint, és nem szükséges szabályozni az „új termék” előírásainak megfelelő követelményeknek (Norton and Da-Wen Sun, (2008). Jó eredményekről számoltak be többek között szeletelt száraz sonkával kapcsolatban mind az eltarthatóság, mind a mikrobiológiai stabilitás és az érzékszervi tulajdonságokat illetően, bár a vörös szín világosodásával számítani kell (Grebol, 2006; Clariana et al. 2011). Ma már Magyarországon is működik egy kísérleti üzemi berendezés (hasznos hengertérfogat 5500 cm³) Green-Divízió Kft., Orosháza.

2.5. Kémiai anyagok alkalmazása

Az élelmiszerkészítmények tartósítására nagyon sok technológiánál alkalmaznak tartósítószerket (kémiai vegyületeket) egyedül vagy más kezeléssel kombinálva. A tartósítószerrel szemben komoly követelmények vannak, amelyeknek meg kell felelni, csak ezek alkalmazhatók (Generally Recommended As Safe - GRAS) élelmiszer-biztonsági szempontból. A különböző zöldségfélék, szárítottanyagok, húsok felületi mikroba csökkentésénél is használnak különböző vegyszerek oldatát hasonló követelményekkel.

A húsok mikrobiológiai szennyezettsége elsősorban a vágott állat testfelületén van. A bőr, illetve a toll (forrázás, tollfosztás) eltávolítása után a felületek zuhanyozásával a mikroorganizmusoknak csak kis része távolítható el, alig egy nagyságrend csökkenés mérhető, ami a húsfelület fizikai tulajdonságaival, zsíros felülettel, biofilm létrejöttével magyarázható. A test felvágása, zsigerelese, darabolása, mosása vízzel, a környezeti forrásokból eredő az esetleges újabb szennyeződések kis szinten tartása komoly feladatot jelent. A munkatér kis hőmérsékleten tartása csak mérsékli a mikroorganizmusok szaporodását. Ezért, ha indokolt a további csíraszám csökkentés, akkor a végtermék mikrobaszennyezettségét kell valamilyen kezeléssel megoldani. Figyelembe kell venni, hogy nemcsak a nyers hús, hanem a belőle készített termékek, ételek

romlásán kívül humán egészségügyi problémák is felmerülhetnek. Az közismert, hogy az élelmiszereredetű megbetegedések nagyobbik hányada az állati eredetű élelmiszerektől származik. Az élelmiszerek feldolgozásának szigorú higiéniai előírásainak megtartása nagyon felelősségteljes feladat. Ma már sok kezelés van, és a gyakorlatban eredményesen alkalmazzák is a kis mikroba szennyezettségű élelmiszerek előállítására.

Azzal a gondolattal meg kell barátkozni, hogy az ilyen típusú kezelések nem valamilyen gondatlanság elpalástolására szolgálnak, hanem természetes módon velejároi lehetnek az élelmiszer előállításának. Az újabb élelmiszerkezelések, tartósítási eljárások, amiket már bevezettek a gyakorlatba, a jó minőség és a biztonság érdekeit szolgálják (Farkas, 1997).

A húsok felületi szennyezettség csökkentésének egyik módja a gőz vagy a forró vízbe mártás (80 °C 10 sec) vagy a permet (90 °C) alkalmazása, a hőmérséklet és a víz nyomása (20.300 kNm⁻²) fontos, itt két-három nagyságrend csíracsökkenés tapasztalható. Vákuumban a 100 °C-nál kisebb hőmérsékleten is kiváló hatású gőzkezelést lehet alkalmazni; ahol az összcsíraszám csökkenés nagyobb, mint öt nagyságrend, az eltarthatóság megháromszorozódik (Evans, 1999). A nagy hőmérsékleten sokszor észlelhető a hús színének elváltozása (Hinton and Corry, 1997).

Másik kezelési lehetőség, s ez gyakori eljárás, a különböző kémiai vegyületek alkalmazása. A klóros víz felhasználása a baromfi iparban nagyon gyakori. Az követelmény, hogy csak ivóvizet lehet felhasználni, s a klór koncentráció a 200 mg/l értéket nem haladhatja meg. A szervesanyag szennyeződések természetesen rontják a kezelés hatásfokát. A hűtővízben alkalmazott kezelés a hatásfok csökkenésen túl keresztfertőzéseket is valószínűsít. Az ózonizált víz alkalmazása közel egy nagyságrend csíraszámcsökkenést eredményez, ami a szalmonella szennyezettséget is egy nagyságrenddel csökkenti. Az eltarthatóság ebben az esetben egy-két nappal nő.

A kezelések között nagyobb eredményességgel lehet beszélni a szerves savak, ecetsav, tejsav, propionsav, alkalmazásának előnyeiről. Ezek közül a legtöbb vizsgálat az ecetsavval és a tejsavval történt a hús- és a baromfiiparban. A szerves savak sokkal hatásosabbak disszociálatlan formában, ez azt jelenti, hogy 5,5 pH értéknél alkalmazzák őket eredményesen. Ezeknek a savaknak az antimikrobás hatása nagyobb zsíros felületeken, mint sovány húsoknál, mivel az előbbiek puffer kapacitása nagyobb. A szerves anyagok, pl. vér, stb. csökkentik az antimikrobás hatást. A merítéses eljárások (10 mp) közül az ecetsav-tejsav-citromsav-aszkorbinsav 3 %-os elegye az összcsíraszámot és a szalmonellák számát egy nagyságrenddel csökkenti. Más vizsgálatok a 10 perces 0,6 %-os ecetsavas kezelésnél az *Enterobacteriaceae* szám csökkenést megerősítik, de az összcsíraszám változást ez alig befolyásolja (Weber, 2003). A tejsav és ecetsav (1,2-3 %) mind merítés, mind permetezés esetében hatásos, kis (15 vagy 25 °C) vagy nagy (52-55 °C) hőmérsékleten. A permetezés hatásosabbnak bizonyult, mint a merítés, mivel a felgyült szerves

anyagok csökkenthetik a sav hatását. Általában a Gram-negatív mikrobák érzékenyebbek a savas kezelésre, mint a Gram-pozitívak. A szalmonellák és a kampilobakterek száma nagy arányban csökkenhet, de vannak adatok arról, hogy az *E. coli* O157:H7 szokatlanul rezisztens savakra (Hinton and Corry, 1997).

A vegyszeres csíraszám csökkentési eljárások között nagyon eredményes a trinátrium-foszfátos (TNF) kezelés permet vagy mártóoldat formájában. Általában a 10 %-os oldattal való kezelés biztosít kielégítő hatást, és a közlemények eredményei alapján ez nagyon kevés foszfát maradékot hagy a hús felszínén. A 10 %-os mártóoldat pH-ja 12, és a hatás elsősorban azon alapszik, hogy az oldat a sejt citoplazma membránjának a permeabilitását lyukképzés következtében tönkreteszi és a citoplazma így kifolyik a sejtből. A kezelés ideje a néhány másodperctől néhány percig tarthat. A kezelést néhányan különböző hőmérsékletű (25-50 °C) oldatban végzik. A vizsgálatok eredményei azt mutatják, hogy a szalmonellák a legérzékenyebbek, 2-3 nagyságrend csökkenés tapasztalható, az *E. coli*, az *L. monocytogenes*, a *Campylobacter* a rezisztensebbek közé tartoznak. A pszeudomonaszok és az összcsíraszámot képviselő más baktériumok viszonylag jó arányban elpusztíthatók (Kim et al. 1994; Slavik et al. 1994; Slavik et al. 1995; Kiss et al. 1995; Genigeorgis, 1999; ANON. 2005.).

A kémiai anyagok között kell megemlíteni a nizin, mint tartósítószert. A nizin a bakteriocinek közé tartozik, antimikrobás hatású, természetes eredetű, tejsavbaktériumok anyagcsere terméke, kis molekula tömegű polipeptid. A készítményt fermentációs úton *Lactobacillus lactis*-szal állítják elő. A Gram-negatív baktériumokra nem hat, a Gram-pozitív baktériumokat elpusztítja, felületaktív, a vegetatív sejtek citoplazma membránjában a lipidekre fejt ki hatását, s így változtatja meg a permeabilitásukat, a baktériumok spórájának csírázását és kihajtását gátolja, hőstabilis, az enzimek elbontják. Közel ötven országban alkalmazzák élelmiszerek (GRAS készítmény), sajtok, növényi konzervek, húskészítmények (hőterhelés csökkentés), sör, stb. tartósítására (Hurst, 1986; Delves-Broughton, 1990; Krommer et al. 2001).

A lakosság megfelelő mennyiségű és minőségű élelmiszerekkel való ellátása alapvető feladata az élelmiszeriparnak. Ez nagyon sokakat érintő munka, tekintve, hogy a mezőgazdaságban megtermelt élelmiszer nyersanyagok mennyiségének és minőségének megőrzése, az élelmiszerkészítmények táp- és élvezeti értékének biztosítása sokak feladata, a termelőtől, a forgalmazón keresztül a fogyasztóig és természetesen a különböző hatóságokat is beleértve. A nyersanyagok és a készítmények tárolhatóságának növelése összefügg a jó nyersanyag minőségével, a jó technológiákkal, a jó gyártási- és higiéniai gyakorlattal. Egy másik meghatározó feladat a biztonságos élelmiszerekkel való ellátása a fogyasztóknak, ami az előbbieket megvalósításának a feltétele. Itt egy több évtizede folyó munka nemzetközi realizálásáról van szó.

A WHO adatai szerint az élelmiszereredetű megbetegedéseket, fejlődő és fejlett országok adatainak ismeretében 10-30 %-ra becsülik. Ezek nagyobbik hányada mikrobiológiai eredetű. A mai ismeretek szerint több, mint 200 mikroorganizmus okoz élelmiszer közvetítésével emberi megbetegedést. Nagy gyakorisággal fordulnak elő a kampilobaktériumos, szalmonellás, verotoxikus *E. coli* okozta, és a vírusos ételmérgezések. A legkockázatosabb élelmiszerek közé sorolják a tojást és tojástermékeket, hús és húskészítményeket, valamint az egyéb állati eredetű élelmiszereket (hal, tejtermék) (Szeitzné-Szabó, 2008). Magyarországon az élelmiszereredetű megbetegedések közül a legnagyobb gyakorisága a szalmonellózisnak és a kampilobakteriózisnak van, bár 2006 óta a számuk csökken, de jelentősen meghaladja az Unió átlagot. A vírusok közül a Norovírus jelenléte egyre növekszik. Az enterális megbetegedések száma 2000-2009 között 35 000-45 000 között ingadozik (Szeitzné-Szabó, 2011).

Costa Rica-ban átfogó jellegű tájékoztatást nehéz kapni az élelmiszereredetű humán megbetegedésekről, mivel viszonylag kevés adat áll rendelkezésre. Csirke vágóhídi feldolgozásánál, zsigerezés után, a vizsgálatok alapján a mosóvíz minták 73,3 %-a kampilobakter pozitív volt, amiből arra következtettek, hogy ez veszélyforrást jelenthet a humán megbetegedésekben (Rojas et al. 1996). A San Joséban, a fővárosban árusított halfilében 65 %-ban mutattak ki *Listeria ssp.*-t (Bianchini et al. 1999), kiskereskedőknél nyers tejben *Listeria monocytogenes*-t 3 %-ban, Salmonella-t a csirkehús 15 %-ában, *Escherichia coli*-t tejben és csirkehúsban mutattak ki (Reuben, et al. 2003). Baromfi feldolgozó üzemben a technológiai vonal különböző kritikus ellenőrző pontjain (CCP) 385 mintából 6,5 % *Campylobacter jejuni* –ra vizsgálva 6,5 % volt a pozitív minták aránya. Ennek alapján valószínűnek tartják ezekből a termékekből a humán megbetegedés lehetőségét (Lámping and Dolz, 2011).

A felsorolt néhány élelmiszer-egészségügyi adatból azt a következtetést lehet levonni, hogy az élelmiszerek potenciális betegségokozó szerepe nem jelentéktelen a mikroba szennyezettségük következtében. A betegek orvosi kezelésének költségei, a munkából való kiesésük egyrészt gazdasági veszteségeket, de ennél jelentősebb egészségügyi károsodásokat és halálozásokat is okozhat. A húsok és elsősorban a baromfi félék mikrobaszennyezettségének csökkentése fizikai, kémiai vagy kombinált kezelésekkel nemcsak a tárolhatósági idő növelését eredményezheti, hanem a betegségokozó mikroorganizmusok számának csökkentését is. Ez azt jelenti, hogy az élelmiszer eredetű, nevezetesen a húsok, betegség közvetítő szerepét jelentősen mérsékelni lehetne különböző kezelésekkel

3. CÉLKITŰZÉS

Az állati eredetű élelmiszerek, s ezek közül is a húsok kémiai összetételükénél, mikrobiológiai állapotuknál fogva nagyon labilisak, könnyen romlanak, és ennek következtében eltarthatóságuk viszonylag rövid, ennek következtében jelentős tápanyagforrás veszteségek lépnek fel, ami komoly gazdasági következményekkel is jár. Ezzel egyidejűleg nem elhanyagolható az a tény sem, hogy betegségkókozó mikroorganizmusok hordozói is lehetnek, aminek viszont egészségügyi következményei is lehetnek.

Dolgozatomban célul tűztem ki, megvizsgálni, hogy a fizikai és a kémiai tartósítási eljárások közül, illetve ezek kombinációjával milyen lehetőségek vannak a húsok eltarthatóságának a növelésére.

A fizikai eljárások közül az ionizáló sugárzás mikroba gátló és pusztító hatását, valamint az aerob- és a vákuumcsomagolás, továbbá a hűtőtárolás kombinatív hatását kívántam meghatározni csirkehús modellen. A kezelés hatékonyságát a különböző mikroba csoportok számának alakulásán keresztül kívántam tanulmányozni a sugárdózis és a tárolási idő függvényében. Ezek ismeretében a kezelések összehasonlítása volt a célom a relatív eltarthatóság megállapítására. A romlást okozó mikrobák számának csökkentésén túl néhány betegségkókozó mikroba számának alakulását is célszerűnek látszott megvizsgálni a húsok élelmiszerbiztonságának növelése céljából.

A fizikai eljárások közül egyre nagyobb érdeklődés van a hőhatásmentes eljárások közül a nagy hidrosztatikus nyomás iránt, amely az élelmiszerek eredeti tulajdonságait kevésbé befolyásolja, de mikrobiológiai szempontból nagyon ígéretesnek látszik. Ezért tanulmányozni kívánom a húskészítmények nyersanyagául szolgáló vagdalt baromfi- és marhahús mikrobaszennyezettségének csökkentését (romlást és betegség okozók) a nyomás függvényében. A hatás növelése érdekében a nizin, mint természetes eredetű tartósítószer kombinatív hatását szeretném meghatározni a nagy hidrosztatikus nyomás alkalmazásával.

A kémiai tartósítószeresek közül a trinátrium-foszfát mártó oldatos eljárás mikrobaszennyezettség csökkentő hatását kívánom tanulmányozni baromfihúsnál, és megvizsgálni annak lehetőségét, hogy a jelenleg alkalmazott vegyszer koncentrációt milyen mértékben lehet csökkenteni, javítva a hűtve tárolt hús eltarthatóságát. A mikrobaszennyezettség csökkentésén túl szeretném megvizsgálni, hogy a kezelés milyen hatással van a kezelést túlélő mikroorganizmusokra, hogyan befolyásolja szaporodási tulajdonságaikat, ami szintén hozzájárul a húsok eltarthatóságának növeléséhez.

4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

A húsok mikrobaszám csökkentéséhez ionizáló sugárzást, nagy hidrosztatikus nyomást és trinátrium-foszfátos kezelést alkalmaztam.

4.1. Vizsgálati anyagok

A kísérletekhez csirkeszárnyat (ionizáló sugárzásos és TNP oldatos kezelés), a nagy hidrosztatikus nyomású kísérleteknél csirkemell húst és marhahúst használtam. (musculus psoas maior).

4.2. Csíraszám csökkentési kezelések

4.2.1. Az ionizáló sugárzás alkalmazása

Az ionizáló sugárzás csíraszámcsökkentő hatásának tanulmányozásához kereskedelmi forgalomban vásárolható baromfi húst (csirkeszárnyat) használtam. A vizsgálatokhoz a szárnyat kettévágtam, egyik feléből a csontot eltávolítottam, a másikkól nem és így csont-nélküli és csontos húsminták álltak rendelkezésemre. A húsminták egyik felét aerob módon polietilén (PE) tasakokba csomagoltam, a másik felénél vákuum-csomagolást, polietilén-poliamid-polietilén (PE-PA-PE) trilaminált-fóliát alkalmaztam. A vákuumcsomagolásnál MULTIVAC A 300 (16) készülékkel 900 mbar nyomás mellett zártam a mintát. A becsomagolt mintákat hűtőtáskában, 8°C hőmérsékleten, szállítottuk az Országos Frédéric Joliot-Curie Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Kutató Intézetbe, ahol a besugárzás történt.

A csomagolt mintákat RH-gamma-30 önármékolt Co-60 laboratóriumi sugárforrásban kezeltük. A dózisteljesítmény $2,4 \text{ kGy h}^{-1}$, az alkalmazott dózis 1, 2, 3 és 4 kGy volt, a kezelés 22-23 °C hőmérsékleten történt.

A besugárzás után a csont nélküli mintákat 8-10°C, a nem-csontozott mintákat 2-3°C hőmérsékleten tároltam. A tárolási idő függvényében vizsgáltam a minták mikrobiológiai állapotát, a mezofil aerob mikrobák számának alakulását (kritikus csíraszám elérése), a romlásban fő szerepet játszó pszeudomonászok számát és az enterobaktériumok jelenlétét, amelyek a betegségokozókra utalhatnak. A mezofil aerob mikrobák túlélési görbéiből, a kritikus csíraszám érték (10^7 g^{-1}) elérésének metszéspontját vetítve a tárolási idő tengelyre, meghatároztam az eltarthatósági időt.

4.2.2. A nagy hidrosztatikus nyomás alkalmazása

A nagy hidrosztatikus nyomásos kezeléshez csirkehúst (mell) és marhahúst használtam fel. A marhahúst (marha felsál - musculus psoas maior) vágóhídról, az állat vágását követően 24 óra után szereztem be. A késsel kisebb darabokra vágott húst ROBOT COUPE SNC R 502 aprító-

homogénező készüléken nitrogén atmoszférában, 20°C-nál kisebb hőmérsékleten 1 percig aprítottam.

A marhahúst mesterségesen szennyeztem *Listeria monocytogenes*, illetve *Bacillus cereus* spóra szuszpenzióval. Ezeket a mikroorganizmusokat azért választottam, mivel a nizin tartósítószer, amit kombinációs partnerként szántam, a Gram-pozitívokra hat. A *Listeria monocytogenes* húsonál gyakori mikroba és patogén, a *B. cereus* törzs spórái rezisztensek és ez a törzs hidegtűrő is.

- *Listeria monocytogenes* OÉTI 493 KR
- *Bacillus cereus* F 46.29.90 ATO-DLO, Wageningen, hidegtűrő

A húst mesterségesen szennyeztem 24 órás ferde agar tenyészetéből 10^8 - 10^9 sejt cm^{-3} sűrűségű szuszpenziót készítettem, ebből annyit tettem az aprított húshoz, hogy annak *Listeria monocytogenes* sejtszáma 10^7 - 10^8 sejt g^{-1} lett. A *B. cereus* hidegtűrő törzs spóráinak szuszpenzióját használtam fel az aprított hús mesterséges mikrobiológiai szennyezéséhez két módon. Az egyik kísérletben a szuszpenziót 60°C hőmérsékleten 10 percig vízfürdőben hőkezelttem, hogy az esetleg ott lévő vegetatív sejteket, csírázott spóras alakokat elpusztítsam. A spóra szuszpenzióból annyit tettem a húshoz, hogy spóraszám 10^6 - 10^7 g^{-1} legyen.

A másik kísérletben a spóra szuszpenziót 80°C hőmérsékleten 10 percig hőkezelttem vízfürdőben, majd lehűtés után annyi szuszpenziót tettem a húshoz, hogy spóraszám 10^7 g^{-1} lett. A baktérium szuszpenziókat a hússal Bag Mixer 400 VW (INTERSCIENCE) készülékkel gondosan egyenműsítettem.

A nizin mikroba gátló és ölü tartósítószer, amit kombinált kezelés céljából adtam a mikrobával szennyezett vagdalt húsokhoz sterilre szűrt nizin oldat formájában. A felhasznált NISAPLIN készítmény (APPLIN & BARRETT Ltd. U.K.) aktivitása 1×10^6 IU g^{-1} volt. A készítményt 50 %-os etilalkoholban feloldottam, majd MLW T-24 típusú laboratóriumi centrifugán 15×10^3 n/ min^{-1} fordulatszám mellett 2 percig centrifugáltam. Ezt követően az oldatot MILLEX®-GV 0,22 μm szűrőn (MILLIPORE) sterilre szűrtem, majd felhasználás előtt 4°C hőmérsékleten 24 órát tároltam. A vagdalt hús nizin koncentrációja 670 IU g^{-1} volt.

A nagy hidrosztatikus nyomás alkalmazásánál a vákuumcsomagolás alapvető követelmény. A mintában az oxigén nyomás csökkenése az aerob mikroorganizmusok szaporodását, túlélési esélyeit, számukat csökkenti és ez már jelentősen meghosszabbítja a hús eltarthatósági idejét. A nagy hidrosztatikus nyomás önmagában és nizzinnel kombinálva tovább csökkentheti a mikrobák káros tevékenységét. Az előkészített mintákat, 10 g, WIPAK Multibarrier (PEPAPE) fóliába vákuum-csomagoltam. A kezelések előtt és után, amíg az összes kezelés meg nem történt, a mintákat 4°C hőmérsékleten tároltam, a *Listeria monocytogenes*- szel készített egyik sorozatnál, a

nyomás alkalmazásáig a tárolási hőmérséklet 25 °C volt. A minták elkészítése és a nagynyomású készülékbe helyezése között legfeljebb 60 perc telt el.

A nagy nyomásos kezelést FOOD LAB 900, Stansted Fluid Power Ltd.(U.K.) készülékkel végeztük. A készülék főbb jellemzői:

termékkosár átmérője	40 mm
termékkosár hossza	240 mm
nyomásközlő folyadék	etilalkohol+15 % ricinusolaj
maximális működési nyomás	900 MPa
hőmérsékleti határérték	-20°C és 90°C
hűtő/melegítő rendszer	hőmérséklet szabályozott folyadék
nyomásszabályozás	elektronikusan szabályozott modul digitális kijelzéssel

Csirkemellnél az alkalmazott nyomás tartomány 100-400 MPa, marhahúsnál 100-800 MPa volt. Az alkalmazott nyomásváltoztatási sebesség 100 MPa / 90 másodperc, a nyomástartási idő 20 perc, a dekompressziós idő pedig 20 másodperc volt. A minták hőmérséklete a nyomás alatt 4-40 °C között volt, a hőmérséklet emelkedése arányosan nőtt az alkalmazott nyomással. A kezelést követően közvetlenül meghatároztam a mikrobiológiai szennyezettséget, illetve a *Bacillus cereus* spóráknál a kezelést követően két hét után újra megvizsgáltam a telepkepző spórák számát. Ezeket a mintákat 4°C hőmérsékleten tároltam.

4.2.3. A trinátrium-foszfát (TNF) mártóoldatos kezelés

A vizsgálatokhoz csirkeszárnyat használtam. A szárnyat az ízületnél két darabra vágtam. A kezeléseket két sorozatban végeztem el. Az előkészített húsmintát $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (REANAL, puriss) vizes mártó oldatába helyeztem 1 percre, majd ferde szitára téve hagytam a folyadékot lecsepegni. Tíz perc várakozási idő után a kezelt húsokat polietilén (EUROTUBE®) tasakba (DELTALAB), helyeztem és lezártam. Először megvizsgáltam az 5 %, 10 % és a 15 %-os, ezt követően pedig a 3,8 %, 5,7 % és a 7,6 %-os trinátrium-foszfát mártóoldat csíraszám csökkentő hatását. A mintákat 3-4°C hőmérsékleten tároltam és meghatároztam a minták mikrobiológiai állapotát a tárolási idő függvényében.

4.3. A mikroorganizmusok számának meghatározása

A mikrobiológiai szennyezettség mértékének alakulása a nyersanyagok mikroorganizmusainak mennyiségétől és minőségétől, aktivitásuktól, a feldolgozás higiéniai viszonyaitól, a jó gyártási gyakorlattól, a csíraszám csökkentő kezelések hatékonyságától függ.

Kísérleteimben a kezelések hatékonyságát a különböző mikroba csoportok és néhány baktérium számának, illetve telepképző képességének, bizonyos sejtsűrűség elérésének megállapításával határoztam meg a kezelések, illetve a tárolási idő függvényében.

A nagy csíraszámok meghatározásánál tápagon felületi tenyésztést, a várhatóan kis csíraszámoknál a legvalószínűbb csíraszám (MPN) módszert alkalmaztam (Kiss, 1977). Az alap szuszpenziót és a hígításokat nátriumklorid (0,85 %) - pepton (0,1 %) steril oldatában készítettem, aminek pH értéke 5,5 volt. A 10 g körüli mintamennyiséget centigramm pontossággal bemértem szűrőbetétes steril műanyag tasakba (Bagfilter P), 90 cm³ hígító folyadékot öntöttem rá, majd Stomacher készülékben 1 percig egyneműsítettem. Ebből az alapsuszpenzióból 10-szeres hígításokat készítettem, majd a felületi tenyésztéshez Spiral Plate technikát alkalmaztam, figyelembevéve a várható sejtsűrűséget. Ennél a módszernél a készülék (Spiral Plate Model D, INTERSCIENCE) kapillárisa 50 µl szuszpenziót helyez el spirál pályán az agar felületére. Néhány vizsgálatnál hagyományosan 0,1 cm³ szuszpenziót kentem szét az agar felületén. A csíraszám meghatározáshoz 2-3 petricsészén lévő telepek számát használtam fel. Az MPN sejtszám meghatározásoknál a hígítási sorból 1 cm³ térfogatot oltottam 4 cm³ térfogatú tápoldatba (3 illetve 5 párhuzamos). A különböző mikroorganizmusok tenyésztéséhez a MERCK és OXOID tápközegeket használtam fel.

4.3.1. Mezofil aerob mikroorganizmusok számának meghatározása

A mikroba szuszpenziót Nutrient agarra (MERCK Cat. No.1.05450) vittem, a leoltást 30°C hőmérsékleten 24 órán át tenyésztettem. Az MPN módszernél (Kiss 1974) Tripton-Glükóz-Élesztőkivonat (TGE, REANAL) tápoldatot használtam. A mikrobaszámokat hígítási szintenként legalább 3-3 párhuzamos adat alapján határoztam meg.

4.3.2. Pseudomonászok számának meghatározása

A pseudomonász baktériumok számának meghatározásához Pseudomonas Agart (OXOID CM559) és Pseudomonas C-F-F Supplement-et (OXOID SR 103 E,) használtam fel. A leoltást 30°C hőmérsékleten 48 órát tenyésztettem. A telepek megszámlálása után a leoltásokat további 48 órát tenyésztettem és módosítottam az adatokat, ha változott a telepek száma.

4.3.3. Enterobaktériumok számának meghatározása

A hígítási sorból a szuszpenziót kristályibolya-neutrálvörös-epe-laktóz agarra (VRBD) (MERCK Cat. No.1.10275) vittem fel. A tenyészetet 18 órán át 30°C hőmérsékleten inkubáltam, majd további két napig szobahőmérsékleten (20-22°C) tartottam és megvizsgáltam, hogy ezen idő alatt bekövetkezett-e telepszám változás.

4.3.4. *Listeria monocytogenes* telepszám meghatározás

A telepszám meghatározáshoz PALCAM-*Listeria*-Selective Agar-t (MERCK Cat. No.1.117559) használtam *Listeria*-Selective-Supplement (MERCK Cat. No.1.12122) hozzáadásával. A leoltásokat 30°C hőmérsékleten 48 óráig tenyésztettem.

4.3.5. *Bacillus cereus* spóraszámának meghatározása

A várhatóan kis sejtszámot MPN módszerrel Tripszin-Glükóz-Élesztő (TGE REANAL) tápoldatban határoztam meg, hígítási szintenként 3, illetve 5 párhuzamossal. Az alapszuszenziót hígítás előtt hőaktiváltam (80°C, 10 perc). A leoltásokat 30°C hőmérsékleten 24 órát tenyésztettem. A tápközeg készítésénél *Cereus*-Selective-Agar-hoz (MERCK Cat.No.1.05267) 50 %-os tojássárgája emulziót (MERCK Cat.No.1.03784) adtam, a leoltásokat 24 óráig tenyésztettem 30°C hőmérsékleten.

4.4. Matematikai módszerek a vizsgálati eredmények értékelésére

A kezelések hatásának a megállapítása céljából a kezelést túlélő, telepet képző mikrobák számát, illetve az MPN módszerrel kapott legvalószínűbb csíraszámot, azok számtani középértékét és szórását, vagy a középértékek logaritmusának relatív értékét számítottam ki. A tárolás során a mikroorganizmusok szaporodását jelölő sejtszám adatokhoz egyenletet illesztettem Baranyi és Roberts (1994) munkája alapján és így szerkesztettem meg a szaporodási görbét. Ezek ismeretében kiszámítottam a maximális szaporodási sebességeket és a maximális sejthozamot. A kezelések nagyságának függvényében vizsgáltam a túlélő mikrobák számának, a maximális szaporodási sebességnek, a maximális sejthozamnak az alakulását, amihez regressziós egyenleteket számítottam ki, ellenőrizve az összefüggések szorosságát.

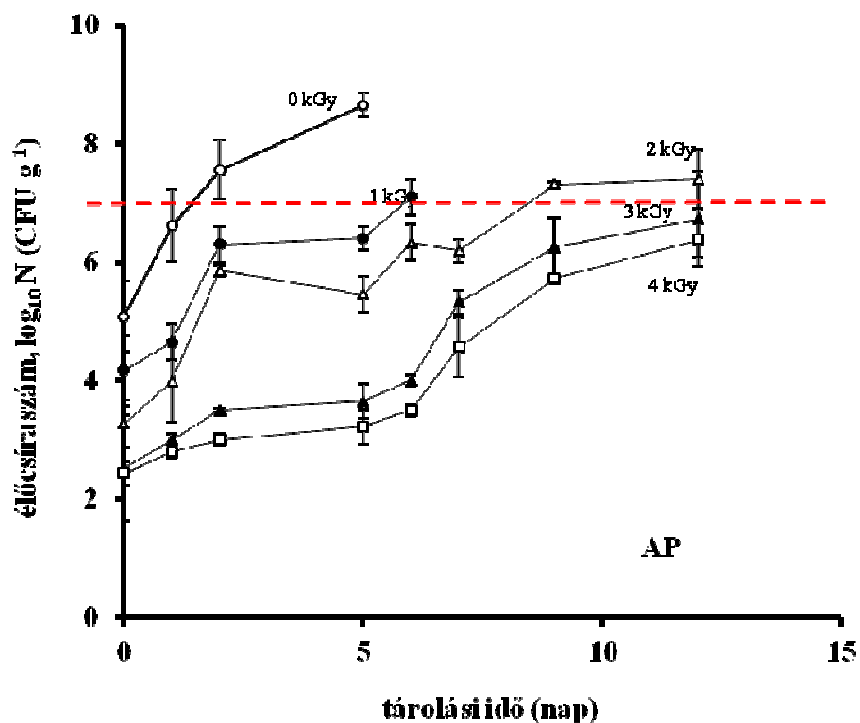
A húsok eltarthatósági idejének meghatározásánál kritikus mikroba számnak a 10^7 g⁻¹ értéket tekintettem. Amikor a szaporodási görbén a csíraszám ezt a határértéket elérte, az ebből a pontból húzott függőleges vonal az idő tengelyre vetítve adta meg az eltarthatósági időt.

5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

5.1. Ionizáló sugárzásos kombináció hatása csirkeszárny eltarthatóságának növelésére

Az ionizáló sugárzás élelmiszeripari alkalmazása az elmúlt két évtizedben egyre több országban kerül gyakorlati bevezetésre. Az élelmiszer-biztonság szempontjából is ma már széles körben elfogadott eljárásnak, a tárolási idő megnövelésén túl a kórokozó mikroorganizmusoktól való mentesítésnek, a megbetegedések számának csökkentésében is sikeres eszköznek bizonyult. Az eljárás egyik jelentős előnyének tekintik, hogy fizikai kezelésről van szó, a vegyszermaradék probléma ennél fogva nem jelentkezik. Miután a csíraszám csökkentési folyamat csomagolt termékkel történik, az utószennyeződés nagy valószínűséggel kizárható.

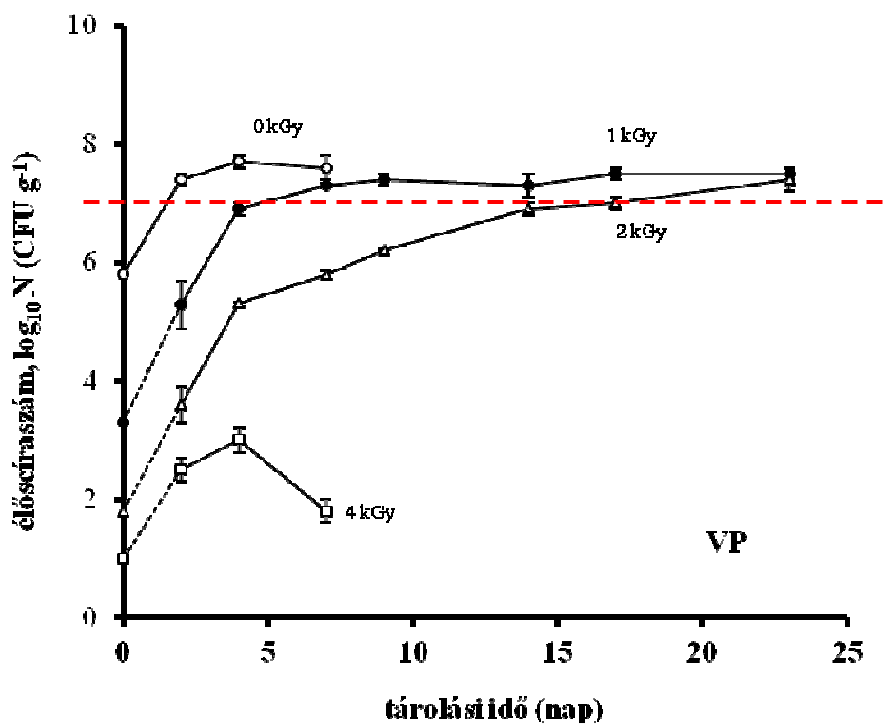
Magyarországon 1959 óta jelentős kutatások folytak az élelmiszerek ionizáló sugárzásos kezelésének területén, ennek egy része a baromfi- és a sertéshús eltarthatóságára irányult. A célkitűzés helyes volt, mivel a csirkehús eltarthatósága a legrövidebb (2-3 nap) és ma is az. A 2012. év végi statisztikai adatok szerint a baromfihús fogyasztás Magyarországon 32 kg/fő volt, ebből a csirkehús 65 % volt, ami a fogyasztott húsoknak az 50 %-át jelenti. A csirkehús kedvező arányának oka a fogyasztók véleménye alapján a fehér és sovány hús jellege.



1. ábra: Polietilén fóliába aerob csomagolt (AP) kicsontozott csirkeszárny mezofil aerob élőcsírászámanak alakulása a sugárdózis és a tárolási idő függvényében 8-10°C tárolási hőmérsékleten (Az átlagértéknél a függőleges vonalak a standard eltérést jelentik.)

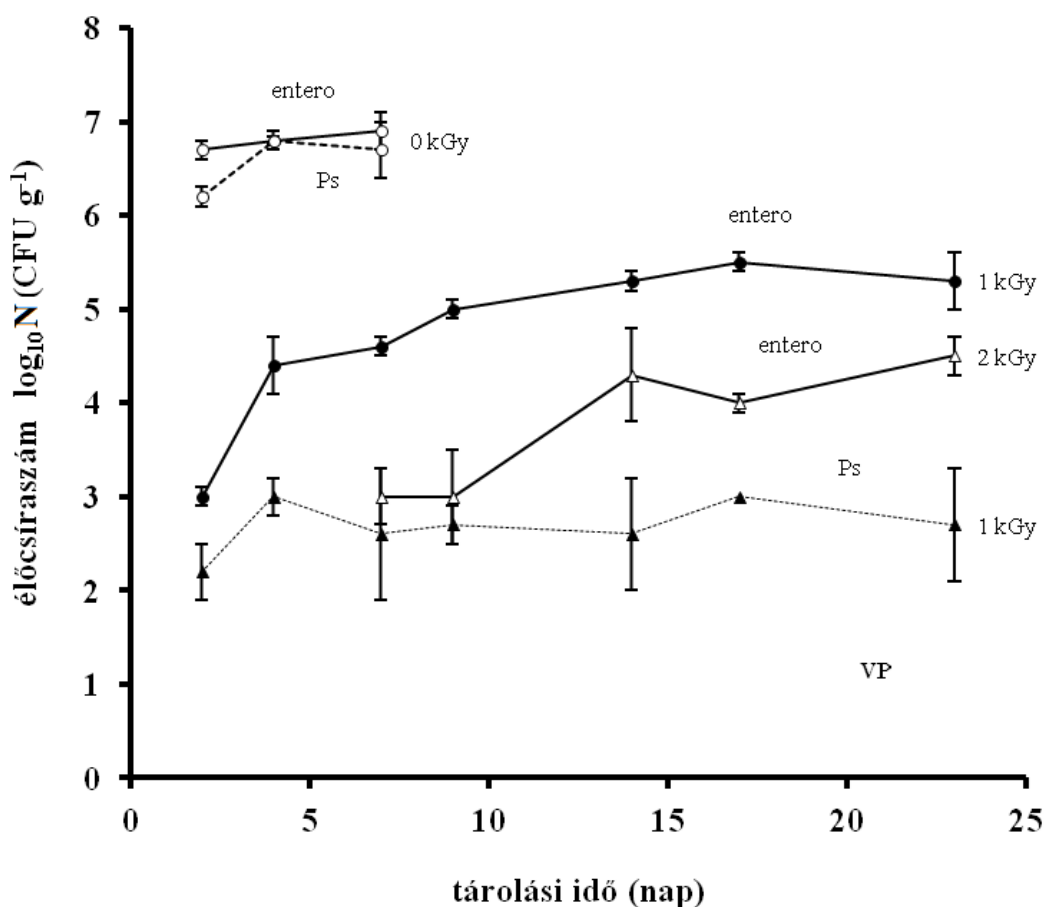
Az ábra alapján az is megállapítható, hogy a csirkeszárny mikrobatársulásának különböző tagjai más-más sugártűrővel rendelkeznek és a kezelést túlélő, valamint a sérült mikroorganizmusok szaporodási tulajdonságai hatással vannak az eltarthatósági időre, ami általában a kritikusnak tekinthető mikroba szennyezettség (10^7 g^{-1}) eléréséig eltelt időt jelenti.

Vizsgálataimban a csirkeszárnyakkal végzett kísérletek eredményei azt mutatják, hogy aerob csomagolást (AP) alkalmazva (polietilén fólia) az 1 kGy dózis a mezofil aerob mikrobák számát egy, a 2 és a 3 kGy további egy-egy nagyságrenddel csökkenti. A túlélők szaporodási sebességét az 1 és 2 kGy dózis ugyanakkor mérsékli, és nagyon lassan már 10^7 g^{-1} sejtszámmal eléri a stacionális szakaszt. A 3 és a 4 kGy-vel kezelt minták mikroba-szennyezettsége egymástól lényegében alig különbözik. Nagyon gyenge szaporodás mutatkozik, inkább lappangási szakasznak tekinthető ez. Hat napi tárolás után látható jelentősebb növekedése a túlélő frakciónak, ennél a kezelésnél tizenkét nap után eléri a stacioner szakaszt 10^6 g^{-1} értéknél (1. ábra).



2. ábra: Vákuumsomagolt (VP) nem-kicsontozott csirkeszárnny mezofil aerob élőcsíraszámának változása a sugárdózis és a tárolási idő függvényében 2-3 °C tárolási hőmérsékleten. (Az átlagértéknél a függőleges vonalak a standard eltérést jelenik.)

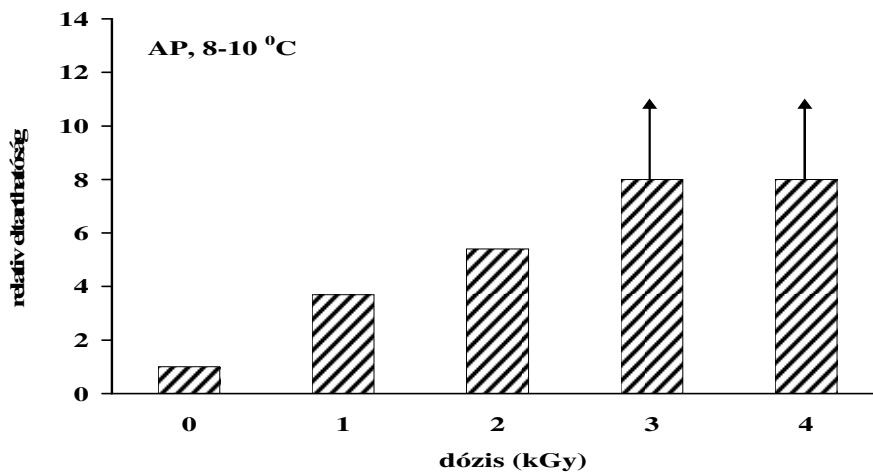
A vákuumsomagolás, a csökkentett oxigén koncentráció következtében természetesen nem kedvez az aerob mikroorganizmusok élettevékenységének, azokat gátolja. Ebben az esetben az 1 kGy dózis már kettő, a 2 kGy pedig négy nagyságrenddel csökkenti az élőcsírák számát. A 2 kGy hatása a szaporodási sebesség mérséklésében is meglátszik. Ebben a kezelési rendszerben a kritikus csíraszám elérése már három hétre nő meg (**2. ábra**).



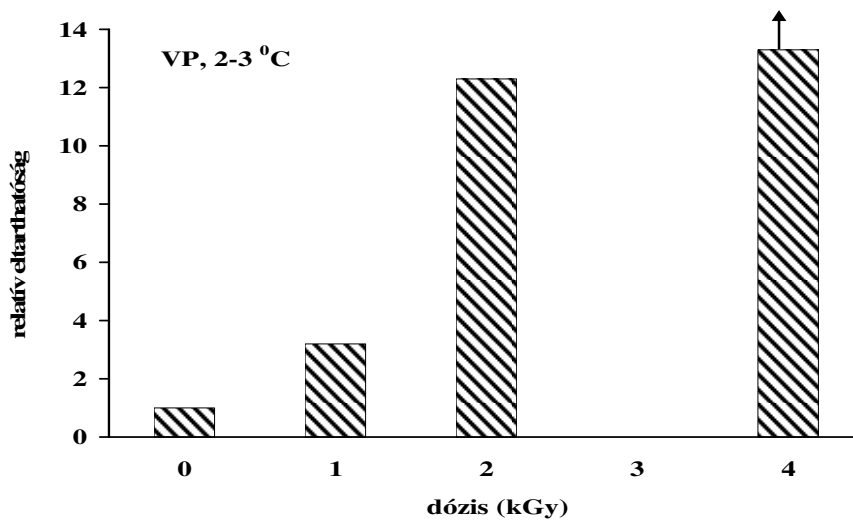
3. ábra: Vákuumsomagolt (VP) nem-kicsontozott csirkeszárnny Enterobacteriaceae- és Pseudomonas-számának (Ps) alakulása a sugárdózis és a tárolási idő függvényében 2-3°C hőmérsékleten tárolva. (Az átlagértéknél a függőleges vonalak a standard eltérést jelenik.)

A vákuum csomagolás kedvező hatását, mint a kombinált kezelés előnyét vizsgálva, az eredményekből megállapítható, hogy a mikrobatársulásban jelenlévő pszeudomonászok (Gram-negatív baktériumok) a besugárzással szemben vákuumcsomagolásnál is nagyon érzékenyek. Pusztulásuk 1 kGy hatására négy nagyságrend volt és számuk a több mint három hét tárolás során nem változott. Az enterobaktériumok valamivel nagyobb, mint három nagyságrend pusztulást mutattak, de az 1 kGy kezelést túlélőknél egy hét után két nagyságrend növekedést észleltem, ami egyben a stacioner szakasz elérését is jelentette. A 2 kGy dózissal kezelt minták enterobaktérium szennyezettsége másfél-egy nagyságrenddel kisebb volt, mint az 1 kGy-vel kezeltké és három hét alatt ennek a mintának a mikrobaszáma is konstans értéken maradt (**3. ábra**).

Az élelmiszerek eltarthatósága elsősorban mikrobiológiai szennyezettségüktől függ. Ezért alapvető feltétel, hogy az élelmiszerek kezdeti mikrobaszáma a lehető legkisebb legyen. Különösen fontos ez olyan élelmiszereknél, ahol a mikrobatársulás tagjainak a generációs ideje rövid, mint például a hús romlásában nagy szerepet játszó Gram-negatívok között a pszeudomonászoké. Ehhez hozzájárul még a húsok kémiai összetétele, ami kiváló tápanyagforrás a mikrobák számára. A húsok mikrobiológiai szennyezettségében jelentős hányadot képviselnek a Gram-negatív baktériumok, ezek között a pszeudomonászok. A mikroorganizmusoknak ez a csoportja viszonylag érzékeny a különböző mikrobaszám csökkentő kezelésekkel szemben. Ezek hatékonyságának megállapításánál a különböző módon kezelt minták mikrobás szennyezettségének alakulását követtük nyomon a tárolási idő függvényében. A húsoknál általánosan elfogadott kritikus mikroba szennyezettségi szintnek a 10^7 g^{-1} értéket tekintettük. Amikor a mikrobák száma ezt elérte a szaporodási görbén, a pontot levetítve a tárolási idő tengelyre a metszéspont alapján az eltarthatósági időt kaptuk meg, a kezelés hatását abszolút értékben, amit a kezeletlen mintánál kapott értékhez viszonyítottunk. A kettő hányadosa adta meg a relatív eltarthatósági időt. A relatív eltarthatósági idő alkalmas arra, hogy össze lehessen hasonlítani a kezeléseket, a sugárdózisok mikrobaszám csökkentő hatását, illetve az eltarthatósági idők alakulását a nem-kezelt mintákhoz viszonyítva. Az aerob csomagolást véve figyelembe, a mintákat 8-10°C hőmérsékleten tároltuk és megállapítottuk, hogy a nem-besugárzott mintához viszonyítva az eltarthatóság az 1 kGy dózisonál négyszeresére, a 2 kGy alkalmazásánál közel hatszorosára, és ennél nagyobb dózisoknál már több mint tízszeresére növekedett. (**4. ábra**). A vákuum csomagolt mintákat 2-3°C hőmérsékleten tároltuk. Ennél a kezeléskor az eltarthatóság az 1 kGy dózisonál közel ötszörösére növekedett, ami a csak vákuumcsomagolthoz viszonyítva az öt nappal szemben hét-nyolc napot jelent abszolút értelemben, a 2 kGy kezelés pedig legalább két hetes eltarthatóságot biztosít (**5. ábra**). A nagyobb dózisok természetesen ezt a hatást tovább fokozzák.



4. ábra: Aerob csomagolt (AP) 8-10°C hőmérsékleten tárolt kicsontozott csirkeszárny relatív tárolhatósága a sugárdózis függvényében.



5. ábra: Vákuumcsomagolt (VP) 2-3°C hőmérsékleten tárolt kicsontozott csirkeszárny relatív tárolhatósága a sugárdózis függvényében.

5.1.1. Az ionizáló sugárzásos kezelés kombináció eredményeinek értékelése

A baromfihús mikrobiológiai szennyezettsége, mint minden más élelmiszeré is, alapvetően meghatározza az eltarthatósági időt. A „jó gyártási gyakorlat” előírásainak gondos megtartásakor sem elhanyagolható a mikrobiológiai szennyezettség mértéke, aminek nagysága befolyásolja a tárolási időt és a minőséget. A romlást okozó mikroorganizmusok mellett ugyanakkor számítani kell kórokozó baktériumok jelenlétére is, aminek következményei világszerte súlyos problémákat okoznak az emberi egészségben. Jól ismert, hogy a kórokozókat legnagyobb gyakorisággal az állati eredetű élelmiszerekben mutatják ki már évtizedek óta (mintegy 65-70%). Az európai adatok alapján a szalmonellák és a kampilobaktériumok nagy gyakorisággal fordulnak elő, Közép-Európai országokban a szalmonellák által okozott járványkitörések 0,4-4,8%-os arányban mutatkoznak.

A vizsgálati eredmények alapján arra a megállapításra jutottam, hogy az ionizáló sugárzás, mint terminális kezelés kitűnő „dekontaminációs eljárás” a baromfihús mikrobiológiai állapotának javítására, a csomagolás pedig kizárja az utófertőzést. A romlást okozó mikroorganizmusok többsége viszonylag érzékeny az ionizáló sugárzással szemben, ezek közül kitűnnek a pszeudomonászok, flavobaktériumok. A mikrobaszám, az aerob csomagolásnál, 2 kGy hatására két nagyságrend, a vákuumcsomagolásnál ugyanezen dózisonál már három nagyságrend csökkenést mutatott. Ez jól egyezik mások kutatási eredményeivel, sertés- és csirkehúsnál (Kiss et al., 1970; Kiss and Farkas, 1972; Kiss et al. 1997; Sommers, 2003). Ez az érték a tárolás több mint három hetes ideje alatt gyakorlatilag nem változott, amiből arra lehet következtetni, hogy ezeknek a mikrobáknak a tevékenységével ezen idő alatt nem kell számolni. Ez a tény az, ami magyarázatot ad arra, hogy viszont a kezelést túlélő mikroorganizmusok lassú szaporodása következtében a kritikus csíraszámot a hús később éri el, ennek következtében eltarthatósága megnő. Az enterobaktériumok között számos patogén mikroorganizmus van. Ezek száma a vákuum csomagolási körülmények között 2 kGy hatására legalább három nagyságrendet csökkent, és ez az érték a 23 napos tárolás alatt csak egy nagyságrendet nőtt. A kórokozó mikroorganizmusok ilyen mértékű csökkentése jó biztosítékot ad ahhoz, hogy a kezelés hatására ezek nagyon kis számban vannak jelen és egészség károsító hatásuk nagyon valószínűtlen (Thayer et al. 1992; Kovács et al, 1981; Kiss et al. 1998; Kiss et al 2001).

A mikrobiológiai vizsgálatok eredményeiből megállapítható volt a kombinált kezelések hatása az eltarthatósági idők alakulása alapján, hogy a vákuumcsomagolás az ionizáló sugárzással kombinálva eredményesebb, mint az aerob csomagolás. A már 1 kGy sugárdózis mikrobaszám csökkentő hatása mind a romlásokozóknál, mind a potenciálisan betegségokozóknál jól érzékelhető. Vizsgálataim alapján a 2 kGy dózis már figyelemre-méltó csíraszám csökkenést eredményez mind a romlást-, mind a betegségokozó mikrobáknál. Ezt mások eredményei is megerősítik. A 4 kGy-nél

nagyobb dózisoknál színváltozást észleltem, nagy zsírtartalomnál pedig már érzékszervi tulajdonságokban nemkívánatos változások léphetnek fel, ezért itt már fagyasztott állapotban javasolt a sugárkezelés (Pusztai et al.1976; Gruiz and Kiss 1986; Kiss et al. 1990; Kiss et. 1994; Kiss et al. 1999).

A vizsgálati eredmények összehasonlítása ismeretében a vákuumcsomagolt és a 2 kGy dózissal kezelt csirkehús 2-3°C hőmérsékleten tárolását javaslom, mint megfelelő kombinált kezelést, ami legalább két hetes eltarthatósági időt biztosít.

5.2. Nagy hidrosztatikus nyomás egyedi és nizzinnel kombinált hatása mikroorganizmusokra aprított csirkehúsban és marhahúsban

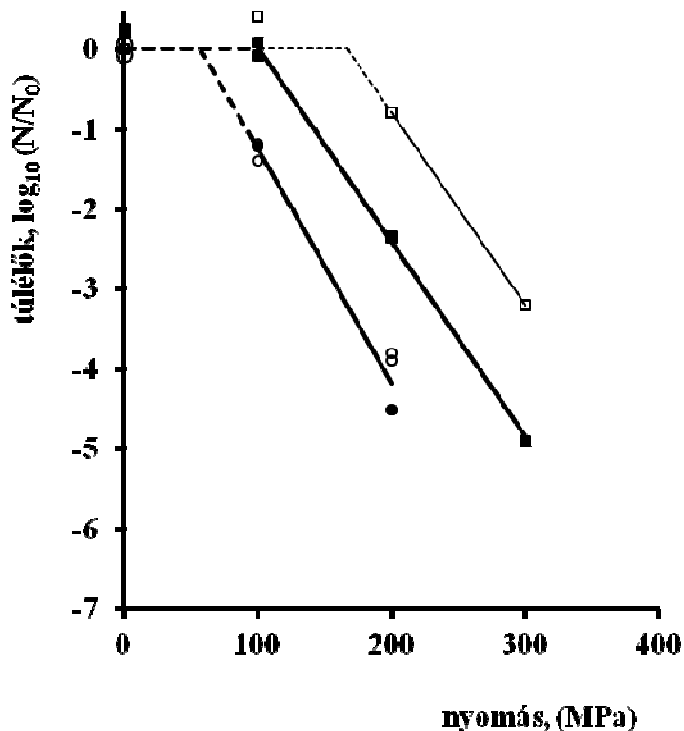
5.2.1. A kezelés hatása a vegetatív baktériumokra

A nagy hidrosztatikus nyomás élelmiszeripari alkalmazásának technikai fejlesztése az utóbbi évtizedben már olyan eredményeket mondhat magáénak, ami lehetővé teszi az eljárás gyakorlati bevezetését néhány élelmiszernél. A hús és bizonyos húskészítmények rövid eltarthatósági ideje, másképp fogalmazva ezek gyors romlása indokolja, hogy olyan tartósítási eljárások kidolgozására kerüljön sor, amelyek minél nagyobb mértékben megőrzik a húsnak, mint fehérje forrásnak eredeti, jó tulajdonságait és javítják eltarthatóságukat. Ezekkel a követelményekkel együtt jár az is, hogy a kórokozó mikroorganizmusok számát a biztonságos szintre csökkentsék. A nagy hidrosztatikus nyomás alkalmasnak látszik ezeknek a követelményeknek a kielégítésére. A hatékonyság növelésére egy lehetőség a nizin, mint már sok területen bevált baktériumellenes hatóanyag alkalmazása (Delves-Broughton, 1990), illetve kombinálása a nagy hidrosztatikus nyomással.

Gyakori, hogy húskészítményekhez felhasznált aprított húsok a mikrobás tevékenység következtében nagyon rövid időn belül megromlanak, ezért nagyon gyors feldolgozás, illetve tartósítószeres, adalékanyagok és kezelések szükségesek. A vizsgálatokhoz aprított csirkemellet, illetve marhahúst (felsál) használtam. A csirkehúsnál a saját szennyező mikrobiota (mezofil aerob összes mikroorganizmus) számának és a pszeudomonászok számának alakulását vizsgáltam a nyomás, illetve a nizin és a nyomás kombinált alkalmazásának a függvényében. Ebbe a kombinációba tulajdonképpen számításba kell venni azt a tényt is, hogy az aprított hús, amire a nagy hidrosztatikus nyomás és a nizin hat, vákuumcsomagolt, tehát a mikrobákra a hatás csökkentett oxigén tenzió mellett hat.

Az eredményekből megállapítottam, hogy a hús mez.ae. összcsíraszama 200 MPa nyomásig nem változott. Ezt követően viszont gyors csökkenés következett be, 300 MPa hatására a változás három nagyságrend volt. Az aprított húshoz nizzint adtam (670 IU g⁻¹ nizin koncentráció),

nyomáskezelés után a telepszám változás a nizin nélküli mintához hasonló lefutású volt, de a csökkenés már 100 MPa-nál megkezdődött és 300 MPa nyomásnál a csökkenés már öt nagyságrend volt (6. ábra). A pszeudomonászok a nyomással szemben érzékenyeknek bizonyultak, számuk csökkenése már 75 MPa-nál megindult és 200 MPa nyomásnál ez az érték már négy nagyságrendet jelentett. Nizin jelenlétében a csökkenés mértéke ettől nem különbözött, tehát a pszeudomonászok pusztulását a nizin nem növelte. A pusztulás szakaszaira számított regressziós egyenesek egyenleteit kiszámítottam, ezek jól illeszkednek a mért adatokhoz (6. ábra).



- pszeudomonász- szám nizin nélkül $\log_{10}(N/N_0) = 1,7 - 0,0293 \cdot p; n = 8$
- pszeudomonász- szám nizinnel
- összcsíraszám nizin nélkül $\log_{10}(N/N_0) = 4,0 - 0,0241 \cdot p; n = 3$
- összcsíraszám nizinnel $\log_{10}(N/N_0) = 2,5 - 0,0243 \cdot p; n = 5$

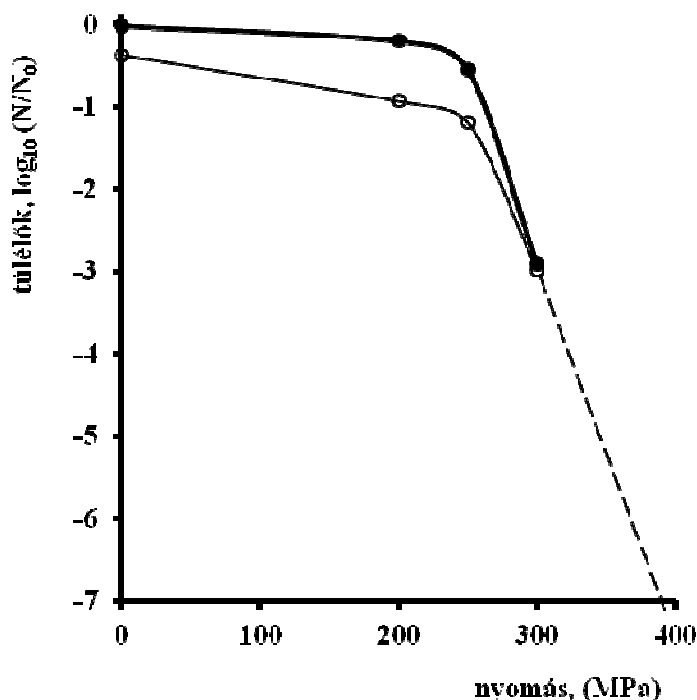
6. ábra: Vagdalt csirke mellhús összcsíraszám és pszeudomonász-számának alakulása nagy hidrosztatikus nyomás (HHP) és a nizin függvényében.

Az eredményekből az következik, hogy aprított csirkemell összes élő mikrobaszáma 120-130 MPa nyomásnál kezd csökkenni. 300 MPa hidrosztatikai nyomás alkalmazásával már három nagyságrend, 670 IU g⁻¹ nizin koncentrációnál pedig öt nagyságrend csökkenést mértem. A pszeudomonászok érzékenyebbnek bizonyultak, számuk 75 MPa nyomásnál már csökkenni kezd,

120 MPa körül másfél, 200 MPa-nál már négy és fél nagyságrend csökkenés mutatkozott, a nizin ezt a hatást nem növelte.

A *Listeria monocytogenes* az egyik nagyon gyakori kórokozó baktérium élelmiszereinkben. Jelenlétét nagyon sok élelmiszerben mutatják ki. Megvizsgáltam, hogy a marhahús természetes mikrobiotája mellett a mesterségesen bevitt *Listeria monocytogenes* az aprított marhahúsban hogyan éli túl a nagy hidrosztatikus nyomást, illetve a nyomás és a nizin kombinációs kezelést.

Az eredményekből megállapítottam, hogy a *Listeria monocytogenes* száma 200-250 MPa nyomásig nem változik, ezt követően viszont gyorsan csökken és 300 MPa nyomásnál erőteljes pusztulást lehetett megállapítani, a csökkenés 3 nagyságrend volt (7. ábra). Nizin jelenlétében a hatást befolyásolta, hogy a nizin hozzáadása után, a nyomáskezelést megelőző tárolás hőmérséklete milyen volt. Abban az esetben, amikor a mintákat 20-24°C hőmérsékleten tároltuk 20, illetve 40 percig, a nazines kombinációnál körülbelül egy nagyságrenddel nagyobb pusztulást észleltem, mint a nizin nélküli mintánál. Ez a különbség a nyomáskezelést nem kapott mintáknál is mérhető volt. A 300 MPa nyomáskezelt mintánál és a nazines kombinációnál különbséget már nem tapasztaltam. Itt a nyomás hatása már nagyobb volt, mint a kombinációé (7. ábra).

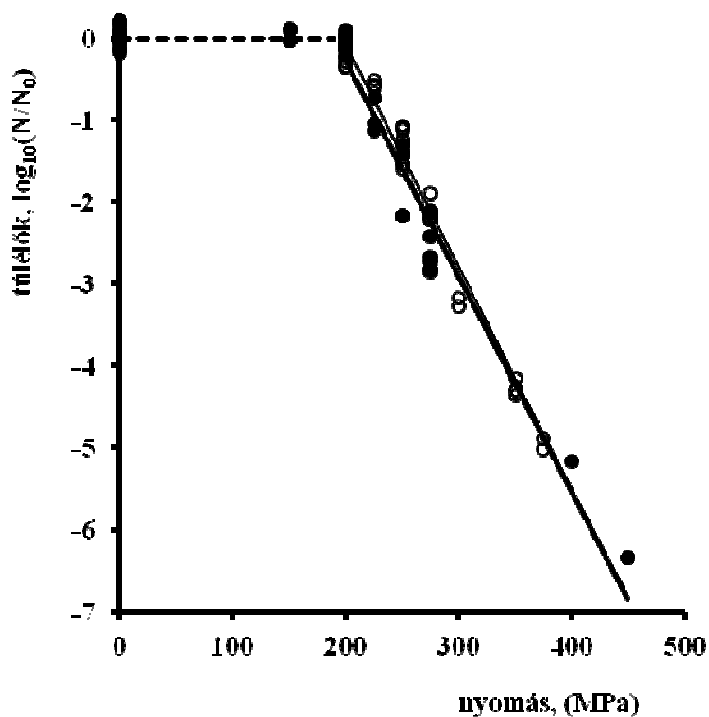


7. ábra: *Listeria monocytogenes* alakulása vagdalt marhahúsban a nagy hidrosztatikus nyomás (HHP) és a nizin függvényében (● nizin nélkül, ○ nizinnel).

A nyomás előtti hőmérséklet 20-24°C

Amikor a mintákat 4°C hőmérsékleten tároltam a nyomás kezeléséig, nem kaptam telepszám különbségeket a nizin és a kombinált kezelés hatása között. A 150 és a 200 MPa nyomás hatására telepszám csökkenést nem tapasztaltam sem a nagy nyomás, sem a nizin kombinációnál. A 225 MPa nyomásnál viszont gyors csökkenés indult meg és 450 MPa nyomásnál már hat nagyságrend változást lehetett megállapítani (**8. ábra**). A nagy nyomású kezelés és a nizzinnel való kombináció hatása lényegében nem különbözött egymástól. Mindkét adatsorra kiszámítottam a regressziós egyenletet. A mérési adatokra nagyon szoros illeszkedést kaptam HHP: $r^2 = 0,9833$, HHP +nizin: $r^2=0,9434$).

Ez azt jelenti, hogy adataim nagy valószínűséggel megbízhatóak. Az egyenletekből számított tízedre csökkenési nyomás érték $D = 37$ MPa, illetve $D = 38$ MPa.



- nizin nélkül; $\log_{10}(N/N_0) = 5,36 - 0,0272 \cdot p$; $n = 38$; $r^2 = 0,983$
- nizzinnel; $\log_{10}(N/N_0) = 4,96 - 0,0262 \cdot p$; $n = 32$; $r^2 = 0,943$

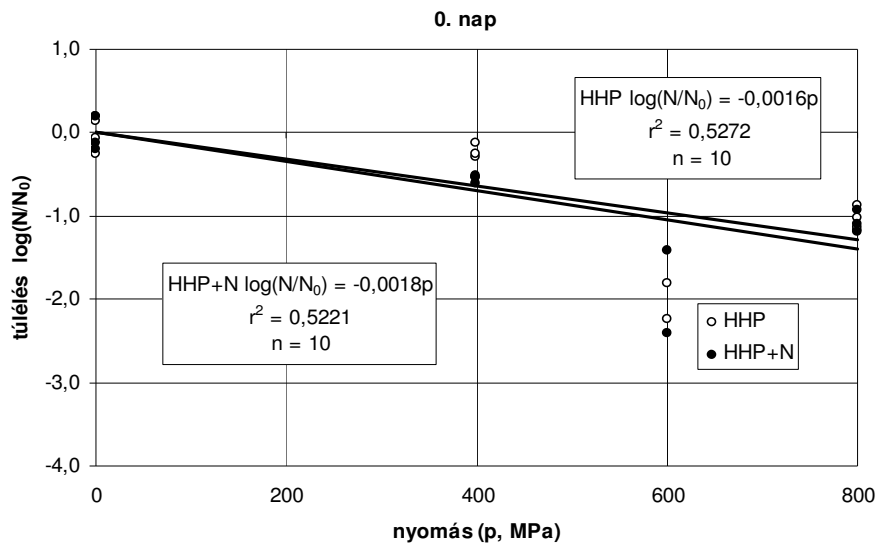
8. ábra: *Listeria monocytogenes* mikrobaszámának alakulása vagdalt marhahúsban a nagy hidrosztatikus nyomás (HHP) és a nizin függvényében. A nyomás előtti hőmérséklet + 4°C.

5.2.2. Kombinált kezelések hatása a *Bacillus cereus* spórákra

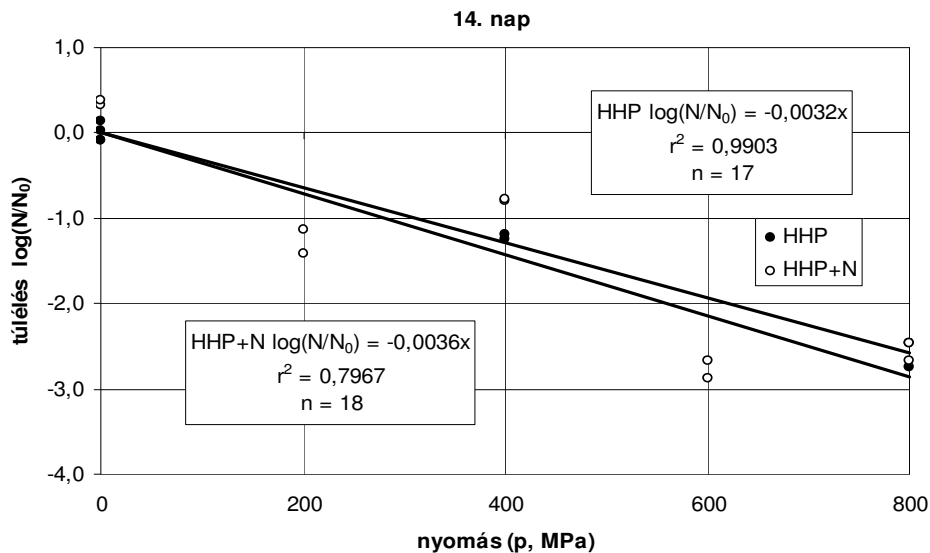
A baktérium spórák nagy rezisztenciája a különböző kezelésekkel szemben jól ismert. Inaktiválásuk vagy elpusztításuk ezért komoly gondot jelent. Nagy ellenállásuk következtében a különböző kezelések olyan mérvű alkalmazása szükséges, ami sok esetben már kedvezőtlen változásokat okoz az élelmiszerek érzékszervi tulajdonságaiban. A nagy hidrosztatikus nyomás élelmiszeripari alkalmazásának előnye, hogy a mikroorganizmusokat elpusztítja, de a termékek néhány olyan tulajdonságát nem károsítja, amit más kezeléseknél ugyanakkor lehet észlelni. Ezért van különös jelentősége a kombinált tartósítási eljárásoknak, amikor is a szinergens hatások előnyeit felhasználva, mérsékeltbb kezelésekkel („minimal processing”) megfelelő mikrobiológiai stabilitást lehet elérni.

A nagy hidrosztatikus nyomás hatása a vegetatív sejtekre nagyon eredményes, tehát ezeknek a mikroba alakoknak, s ezek jelentik nagyon sok élelmiszernél a mikrobiota többségét. A mikrobaközösség kisebb hányadát képviselő baktérium spórák hatástalanítása nem egyszerű feladat a nagy nyomás alkalmazásával sem, de felhasználásával növelhető a spórák érzékenysége más kezelésekkel szemben (Knorr, 1993). Az jól ismert, hogy komplex közegekben, mint például az élelmiszerek, a mikroorganizmusok tűrőképessége, illetve érzékenysége különböző módon alakulhat az ott lévő vegyületek és azok tulajdonságai következtében (Smelt, 1998). A kezelések fizikai vagy a különböző vegyületek kémiai hatása bizonyos feltétel rendszerben érzékenyítheti a baktérium spórákat. Vizsgálataimban a nizin nevű bakteriocint, mint kombinációs partner hatását vizsgáltam.

A nizin törzsoldatból az aprított marhahúsba olyan mennyiséget kevertem el, hogy koncentrációja 670 IU g^{-1} legyen. A *Bacillus cereus* spóra szuszpenzióban lévő nem dormans spóra állapotú alakokat 60°C hőmérsékleten 10 perces hőkezeléssel inaktíváltam, lehűtés után ezt a szuszpenziót kevertem el a húsban. A nagy hidrosztatikus nyomást követően közvetlenül meghatároztam a kezelést túlélő baktériumok számát. A vizsgálati adatok alapján a 0-800 MPa nyomástartományban vizsgálva az élő mikroorganizmusok számának alakulását, a regressziós egyenlet alapján kapott egyenesből azt a következtetést lehetett levonni, hogy a mikrobaszám a nyomás hatására csökkent, s a relatív változás csak alig volt nagyobb egy nagyságrendnél. A nizin jelenléte ezt a változást ebben a vizsgálati rendszerben nem befolyásolta. Az egyenes illeszkedése a vizsgálati adatokhoz nagyon szoros volt, a nyomás kezeltnél az $r^2 = 0,9727$, a nizzinnel kombináltnál $r^2 = 0,9216$ (9. ábra).



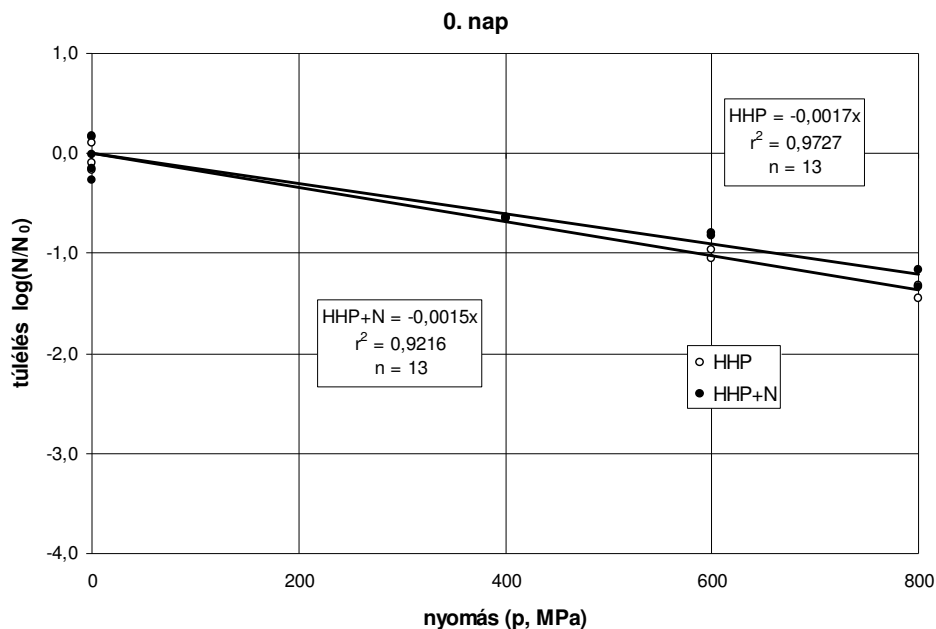
9. ábra: A nagy hidrosztatikus nyomás (HHP) és a nizin hatása a dormans *Bacillus cereus* spórákra vagdalt marhahúsban a nyomáskezelés után közvetlenül



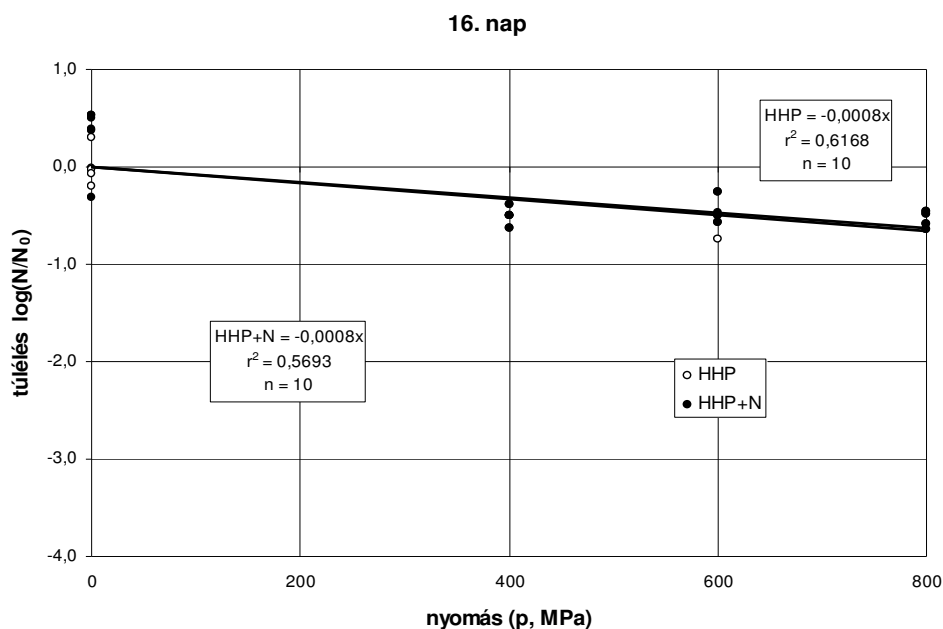
10. ábra: A nagy hidrosztatikus nyomás (HHP) és a nizin hatása a dormans *Bacillus cereus* spórákra vagdalt marhahúsban 4 °C hőmérsékleten tárolva a nyomáskezelés után 14 nappal

A mintákat 14 napig 4°C hőmérsékleten tároltam és azt tapasztaltam, hogy ekkor másfél nagyságrend telepszám csökkenést lehetett kimutatni a kiindulás csíraszámhoz viszonyítva a 800 MPa nyomással kezelthez képest. A nizin hatását itt sem lehetett megállapítani nagyon a nizin nélkülötől. A regressziós hányados alapján a mért értékek itt is szorosan illeszkedtek az egyeneshez ($r^2 = 0,0032$ HHP, $r^2 = 0,0036$ nizin).

A kísérletek során megvizsgáltam a dormans, hőkezelt spóraszuszpenzióra kifejtett hatását a nagy hidrosztatikus nyomás, valamint a nagy hidrosztatikus nyomás és nizin kombinált alkalmazása során. A spóra szuszpenziót 80°C hőmérsékleten végzett tíz perces hőkezelést (hőaktiválás) követően lehűtöttem, belekevertem az aprított húsba, fóliába zárás után alkalmaztam a különböző nyomásokat (400, 600 és 800 MP), a nyomás hatására közel több, mint 1 nagyságrend csíraszám csökkenést észleltem. A nazines kombinációnál lényegében azonos mértékű volt a változás. A 16 nap 4°C hőmérsékleten tárolt mintáknál a telepszám 800 MPa-nál csak 0,5 nagyságrenddel volt kisebb a kiinduláshoz viszonyítva (**11.-12. ábra**). Ennél a kísérletnél sem lehetett különbséget megállapítani a nizin nélküli és a nazines kombináció eredményei között. A regressziós egyenesek illeszkedése a mérési pontokhoz itt is nagyon szoros ($r^2=0,9727$, illetve $0,9216$), erősen szignifikáns volt.



11. ábra A hőkezelés (80 °C 10 perc) és a nagy nyomás (HHP) hatása a dormans *Bacillus cereus* spórákra vagdalt marhahúsban nizin nélkül és nizin jelenlétében a kezelés után közvetlenül.



12. ábra A hőkezelés (80 °C 10 perc) és a nagy nyomás (HHP) hatása a dormans *Bacillus cereus* spórákra vagdalt marhahúsban nizin nélkül és nizin jelenlétében 4 °C hőmérsékleten tárolva a nyomáskezelés után 16. nappal

5.2.3. A nagy hidrosztatikus nyomás és a nizin kombináció eredményeinek értékelése

Vagdalt csirkemellben vizsgálva a hidrosztatikus nyomás függvényében a mezofil aerob mikroorganizmusok számának alakulását, megállapítottam, hogy az 120-150 MPa-nál már csökken, 300 MPa nyomásnál 3 nagyságrenddel és nizzinnel 5 nagyságrend változást eredményez. A pszeudomonászok kimondottan érzékenyek, és nizin nélkül is 200 MPa nyomásnál 4,5 nagyságrend csökkenést lehetett mérni. A mesterségesen bevitt *Listeria monocytogenes* nyomással szemben a rezisztensebbek közé tartozik, de 200 MPa nyomás felett már gyors csökkenést mutat, számuk 450 MPa- nál már négy és fél nagyságrenddel csökken. Közel hasonló eredményről számol be Simpson és Gilmour(1997) és Patterson (2005), akik más enterális baktériumoknál is csekély hőkezeléssel kombinálva jelentős pusztulásról számoltak be.

A baktérium spórák rezisztenciája mind a fizikai, mind a kémiai kezelésekkal szemben közismerten nagy. Önmagában a nagy hidrosztatikus nyomás még nagy értékeknél sem ad megfelelő csökkenést a spóraszámban. A baktérium spórák tűrőképessége között nagy különbségek vannak, ezt még növelheti a szuperdormans spórák aránya a populációban, és az élelmiszer belső tulajdonságai ezt még módosíthatják (Wills and Clouston, 1973; Kiss és Kovács-Proszk 1981;Gould, 2000; Farkas et al. 2003; Beczner et al. 2003).

A marhahúsban a dormans *Bacillus cereus* spóránál 800 MPa hatására valamivel nagyobb, mint egy nagyságrend csökkenést észleltem, a nizin jelenléte ezt nem módosította. Két hetes tárolás után viszont a nyomás függvényében a 800 MPa-nál már két nagyságrenddel kisebb volt a telepszám, amiből a nyomás következtében spórákárosodásra, illetve pusztulásra lehet következtetni. A 80 °C 10 perces hőkezelés és az azt követő nyomás alkalmazása gyakorlatilag csak egy nagyságrend csökkenést mutatott 800 MPa-nál, és 16 nap tárolási idő után sem változott lényegesen a helyzet nizin jelenlétében sem. Ebből arra a következtetésre lehet jutni, hogy az általam végzett kezelésekkel jelentős változást nem lehetett elérni az adott kombinációs feltételek mellett.

Azt meg kell jegyezni, vannak irodalmi adatok arra vonatkozóan, hogy a hús színe a kezelés következtében megváltozik (hús pigment denaturáció), ezért célszerűbbnek látszik az így kezelt hús felhasználása különböző húskészítményeknél (pácolt, füstölt, főtt), de ugyanakkor a fehérje szerkezetben bekövetkező változások javítják a tápértéket, javítják a só diffúziót, a vízmegtartó kapacitást (Hassan et al. 2002; Hajós et al. 2003; Patterson, 2005; Villacis et al. 2008).

A túlélési görbék, illetve az ezekből számított regressziós egyenesek meredeksége lehetőséget kínált ahhoz, hogy a mikrobaszám tizedrecsökkenéséhez hasonló dózis értékeket vagy a mi esetünkben „nyomás érzékenység”-et, a meredekség reciprokanak számítása alapján össze lehessen hasonlítani. Így a következő megállapításokat lehet tenni: csirkehúsnál a mez.ae.összes mikrobánál a nyomásérzékenység 41,1 MPa, a pszeudomonászokra 34,1 MPa, a *Listeria monocytogenes*-re 38,0 MPa értéket kaptam. A *Bacillus cereus* nem-hőaktivált spóráira közvetlenül a kezelés után 769,2, két hetes tárolás után 294,1 MPa értéket. A hőaktivált spóráknál kezelés után közvetlenül 588 MPa, két héttel később viszont 1000 MPa nyomás érzékenység volt megállapítható. A vegetatív mikrobák általam vizsgált csoportja közel azonos 30-40 MPa értékkel jellemezhető érzékenységet mutattak a vizsgált feltétel- rendszerben. A baktérium spórák rezisztenciája ennél jóval nagyobb, 10-25 szörös érték volt. Érdekes módon a nem hőaktivált spóra nyomásrezisztenciája nizin jelenlétében két hét után a felére csökkent (**1. táblázat**). A hőaktivált, majd nyomáskezelt, esetleg szubletálisan károsodott spórák két hét után 4°C hőmérsékleten tárolva nagyobb csíraszámot adtak, ami nagyobb rezisztenciára utal, amiből esetleg arra lehet következtetni, hogy a mikrobák sérüléseiket kijavították, ennek következtében romlás- vagy betegségokozók jelenlétére is lehet számítani.

1. táblázat: Mikroorganizmusok „nyomás érzékenysége” (MPa) a nyomáskezelés után közvetlenül és a tárolás (4 °C) 14. ill. 16 napján

Mikroorganizmus	Nyomás érzékenység (MPa)	
	kezelés után közvetlen	tárolás után
pszeudomonászok	34,1	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	38,0	-
m.ae.összes élő mikroba	41,1	-
<i>B. cereus</i> 60°C 10 min	769,2	294,1 (14 nap)
<i>B. cereus</i> 80°C 10 min	588,0	1000,0 (16 nap)

Az eredményekből megállapítottam, hogy a mikroorganizmusok nyomásérzékenysége nagyon eltérő. A pszeudomonászok viszonylag már kis nyomás hatására is elpusztulnak, ezzel szemben vannak mikrobák, például a *Listeria monocytogenes*, amely csak egy küszöbértéknél nagyobb nyomás elérése után kezd pusztulni. Ezt követően viszont a mikrobaszám változás exponenciális jellegű. Ezeknek az ismereteknek a birtokában arra lehet következtetni, hogy a továbbiakban bővíteni kell a kísérleteket, aminek alapján lehet csak további helyes következtetéseket levonni a nagy hidrosztatikus nyomás alkalmazhatóságának területén. A nizin alkalmazása, mint kombinációs tényező, jelentős spóraszám csökkenést eredményez például savanyú kémhatásnál (Roberts and Hoover, 1996). A kombinációs lehetőségek száma elég nagy ahhoz, hogy megfelelő és hatékony eljárást lehessen kidolgozni.

5.3. Trinátrium-foszfát hatása csirkeszárny eltarthatóságának növelésére

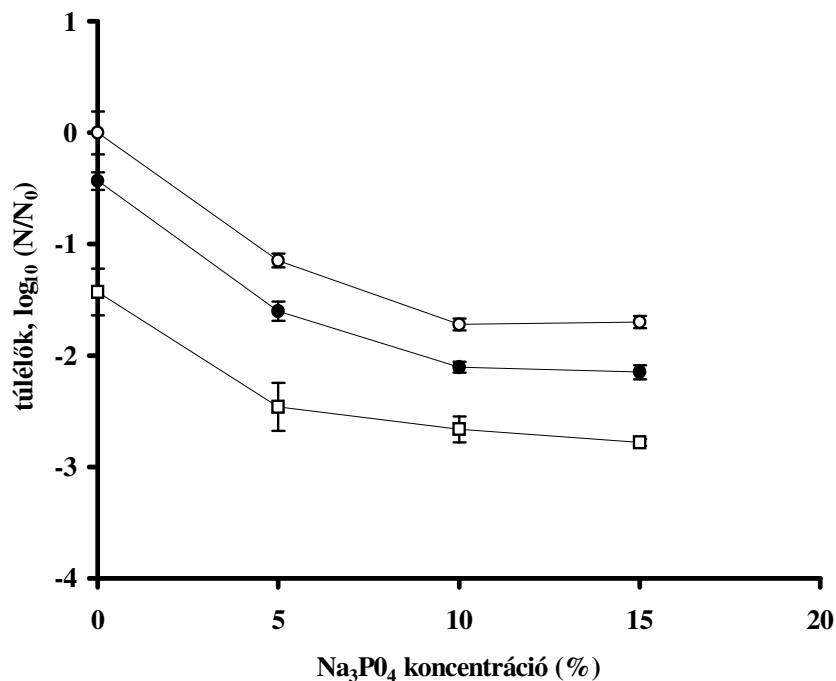
A húsok felületi mikroba szennyezettségének csökkentésére sok helyen foglalkoznak vegyszerek mártó oldatként való felhasználásával. A különböző szerves savak mellett a különböző foszfátok alkalmazása iránt nagy érdeklődés nyilvánult meg, és bevezetésüket sok helyütt szorgalmazzák és alkalmazzák (EFSA 2005).

Kísérleteimben a trinátrium-foszfát hatékonyságát vizsgáltam a mártó oldat koncentráció függvényében a csirkeszárny eltarthatóságának növelése céljából.

A kísérletek első szakaszában megvizsgáltam az 5, 10 és a 15 % koncentrációjú mártó oldatok mikrobaszám csökkentő hatását. Az oldatban tartás idejét 1 percben határoztam meg. Ezt követő

rövid lecsurgatási idő után, hogy a felesleges mártó oldat a hús felületéről eltávozzon, az utólagos szennyeződés kizárása céljából a húsdarabokat polietilén tasakokba csomagoltam és a mintákat 4°C hőmérsékleten tároltam. A tárolási idő függvényében meghatároztam a minták mikrobiológiai állapotát.

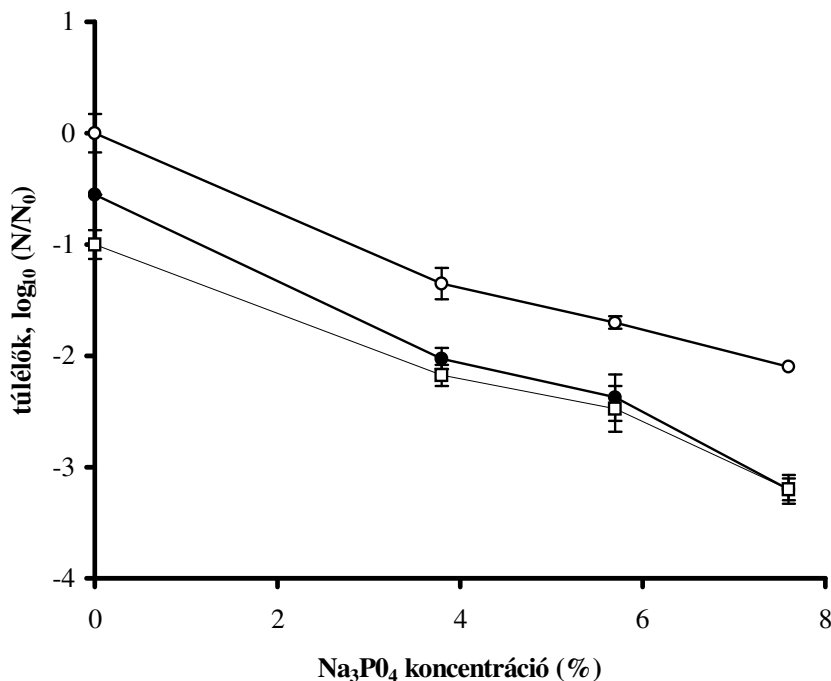
A kísérleti adatokból meg lehet állapítani, hogy a mezofil aerob mikroorganizmusok száma az 5 %-os koncentrációjú mártó oldatos kezelés hatására egy nagyságrend körüli, a 10 %-os oldattal való kezelésnél másfél nagyságrend, és a 15 %-nál ennél alig valamivel nagyobb mérvű csökkenés volt észlelhető. A pszeudomonászok és az enterobaktériumok száma is ettől alig eltérő csökkenést mutatott (**13. ábra**). Ebből arra a következtetésre jutottam, hogy gyakorlati szempontból 10 %-nál nagyobb koncentrációjú oldattal nem indokolt foglalkozni, feltehető, hogy az optimális hatás az 5 és 10 %-os koncentrációjú oldatnál érhető el.



13. ábra: Csirkeszárny mikrobiológiai szennyezettségének alakulása a Na₃PO₄ oldat koncentráció függvényében (0, 5, 10 és 15 %), ○ mezofil aerob szám (n = 31), ● *Pseudomonas*-szám (n = 30), □: *Enterobacteriaceae*-szám (n = 22)

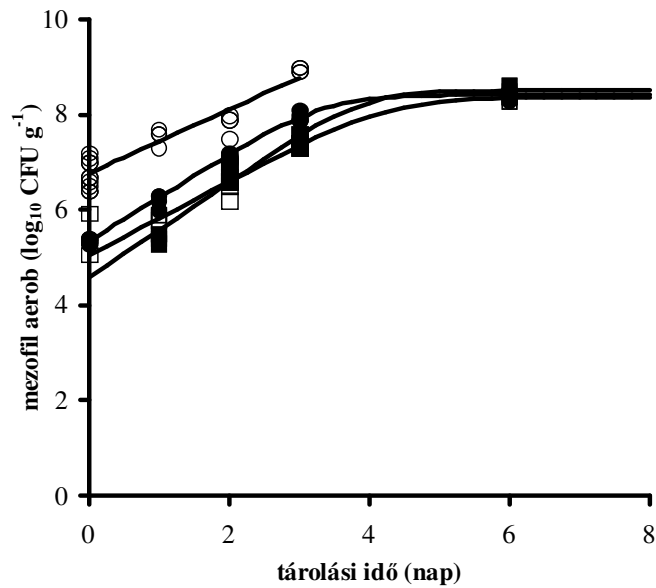
A fentiek alapján, a továbbiakban 3,8, 5,7 és 7,6 %-os koncentrációjú oldatok hatását hasonlítottam össze a kezeletlen hús minták mikrobaszámának alakulásával. A 7,6 %-os oldattal való kezelésnél közel két nagyságrend csíraszám csökkenést állapítottam meg a mezofil aerob

mikrobák számában, a pszeudomonászok és az enterobaktériumoknál közel három nagyságrend változás volt (13. ábra).

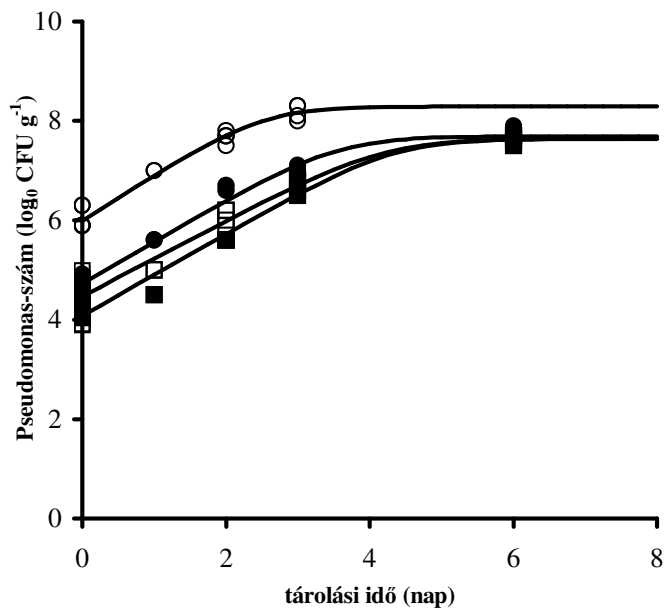


14. ábra: Csirkehús mikrobiológiai szennyezettségének alakulása a Na₃PO₄ oldat koncentráció függvényében (0, 3.8, 5.7 és 7.6 %) ○: mezofil aerob szám (n=14), ●: *Pseudomonas*-szám (16), □: *Enterobacteriaceae*-szám (n = 16),

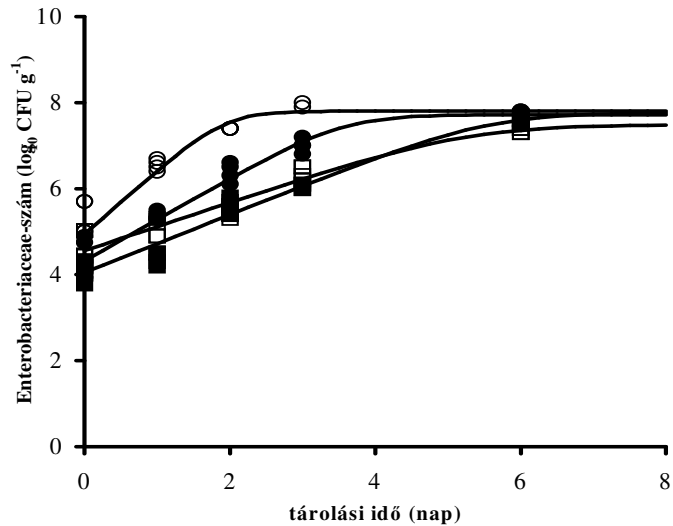
A minták mikrobiológiai szennyezettségét vizsgálva a tárolási idő, illetve a trinátrium-foszfát mártó oldat koncentrációjának függvényében, a telepszám adatok a mikrobacsoportok szaporodási görbéjét adták meg, amelyek alapján a szaporodási görbe illesztésének számítását elvégeztem a mezofil aerob mikrobák, a pszeudomonászok és az enterobaktériumok csoportjaira (15-16. ábra).



15. ábra: Csirkeszárny mezofil aerob mikrobáinak illesztett szaporodási görbéje a Na_3PO_4 oldat százalékos koncentrációjának függvényében +4 °C tárolási hőmérsékleten (○: 0 % (n = 22); ●: 3.8 % (n = 20); □: 5.7 % (n = 18); ■: 7.6 % (n = 16))



16. ábra: Csirkeszárny *Pseudomonas* mikrobáinak illesztett szaporodási görbéje a Na_3PO_4 oldat százalékos koncentrációjának függvényében +4 °C tárolási hőmérsékleten (○: 0 % (n = 16); ●: 3.8 % (n = 20); □: 5.7 % (n = 24); ■: 7.6 % (n = 22))



17. ábra: Csirkeszárny *Enterobacteriaceae* mikrobáinak illesztett szaporodási görbéje a Na₃PO₄ oldat százalékos koncentrációjának függvényében +4 °C tárolási hőmérsékleten, (○: 0 % (n = 16); ●: 3.8 % (n = 24); □: 5.7 % (n = 22); ■: 7.6 % (n = 24))

Húsoknál a pszeudomonászok száma gyakorlatilag elég jól megközelíti az összes mikrobák számát, az enterobaktériumok pedig tájékoztatásul szolgálnak az egészséget potenciálisan veszélyeztető mikrobákról. Ezeket az eltarthatósági időket, illetve a pszeudomonászok és az enterobaktériumok 10⁷ g⁻¹ sejtsűrűség eléréséig eltelt időket foglaltam össze a **2. táblázatba**.

2. táblázat: A kezeletlen és a különböző koncentrációjú Na_3PO_4 mártóoldattal kezelt aerob csomagolt csirkeszárm eltarthatósági ideje (nap) 4°C tárolási hőmérsékleten a különböző mikrobacsoportok kritikus csíraszámát véve figyelembe

Na_3PO_4 koncentráció (%)	Tárolási idő (nap)		
	mez.ae.össz.cssz.	pszeudomonász sz.	enterobaktérium sz.
0	0,5	1,0	1,5
3,8	2,0	2,7	3,0
5,7	2,5	3,5	4,5
7,6	2,7	3,8	4,7

Az ábrák és a táblázat alapján megállapítható, hogy nagy kezdeti mikrobaszámnál az eltarthatósági idő rövid, tehát a feldolgozás során, a jó gyártási gyakorlat, a higiéniai előírások megtartása nagyon fontos követelmény. Általában a gyakorlatban ez a kezdeti érték 10^5 - 10^6 g⁻¹ sejtszám, az eltarthatóság ebben az esetben is általában csak 1 nap 5°C hőmérsékleten. A mártó oldatos kezelés az összes élő mikrobák számát a 3,8-7,6% Na_3PO_4 koncentráció tartományban 1,5-2,0 nagyságrenddel csökkenti. A pszeudomonások a kezeléssel szemben érzékenyebbek, az enterobaktériumok a populáció kisebb részét képezik, és valamivel rezisztensebbek. A kezelés hatékonyságának a megítéléséhez jó támpontot nyújt a relatív eltarthatóság (**3. táblázat**).

3. táblázat: A Na_3PO_4 mártó oldatos kezelés hatása az aerob csomagolt, 4 °C hőmérsékleten tárolt csirkehús relatív eltarthatóságára a százalékos koncentráció függvényében.

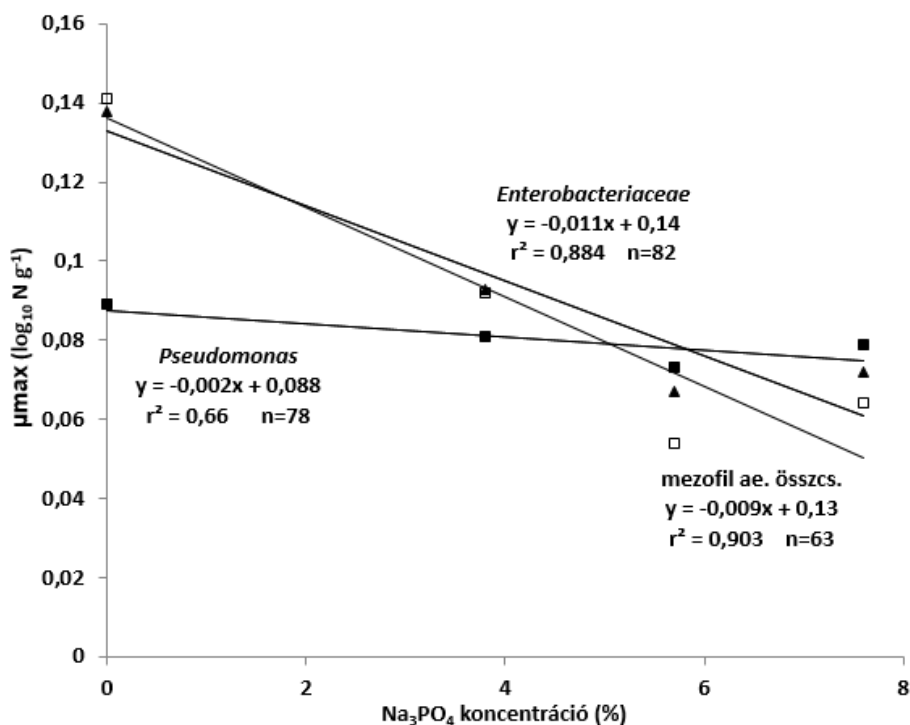
Na_3PO_4 koncentráció (%)	Relatív eltarthatóság
3,8	4
5,7	5
7,6	5,4

A táblázatból jól látható, hogy a 7,6 %-os mártó oldat legalább ötszörösére növeli az aerob csomagolt csirkehús tárolhatóságát 4 °C tárolási hőmérsékleten. Az eredmények értékelése során azt a következtetést vontam le, hogy a vizsgált nátrium-foszfát koncentráció tartományban a 7,6 %, illetve egyszerűség szempontjából a 8 %-os koncentráció az adott kezelési rendszerben megfelelő mértékben, mintegy ötszörösére növeli az aerob csomagolt csirkehús eltarthatóságát.

A pszeudomonászok érzékenysége a kezeléssel szemben viszonylag nagy és a csökkentett csíraszám így hozzájárul az eltarthatósági idő megnöveléséhez. Az enterobaktériumok száma, amelyek csoportjába tartozik több betegségek okozó baktérium, ugyancsak csökken, s ennek következtében a megbetegedés kockázatának valószínűsége is kisebb.

5.3.1. A trinátrium-foszfátos kezelés hatása a mikroorganizmus csoportok szaporodási sebességére és a maximális sejthozamra

A tárolás során, a különböző kezelések következtében a mikroorganizmus csoportok szaporodási görbéjéhez számításil illesztett görbék felhasználásával kiszámítottam a mikroorganizmus csoportok maximális szaporodási sebességét és meghatároztam a trinátrium-foszfát koncentráció függvényében a regressziós egyenesek egyenletét **18. ábra**.

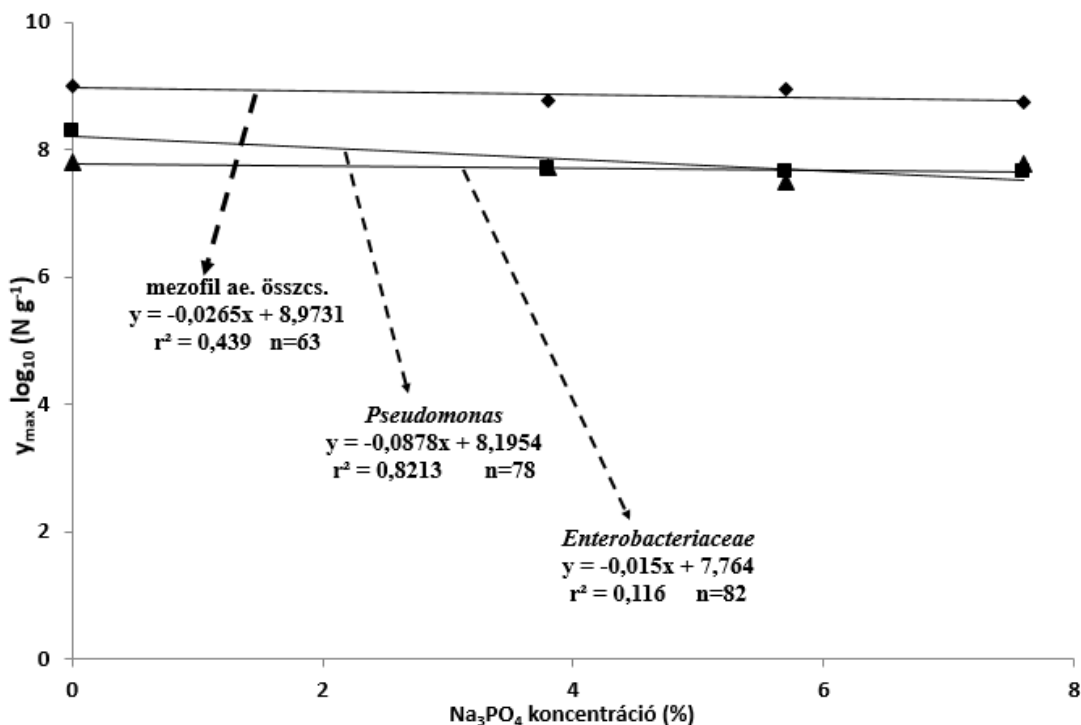


18. ábra: A csirkeszárny mezofil aerob mikrobáinak, a pszeudomonászoknak és az enterobaktériumoknak maximális szaporodási sebessége a Na_3PO_4 oldat koncentráció függvényében.

Az egyenletek meredekségéből azt a következtetést lehetett levonni, hogy a trinátrium-foszfát koncentráció növekedése a vizsgált tartományban csökkenti a kezelést túlélő mikroba csoportok szaporodási sebességét. Az összes élő mikrobák és az enterobaktériumok maximális szaporodási

sebessége közel azonos mértékben csökken ($\mu_{\max} = -0,009$, illetve $-0,011$), a pszeudomonász csoport túlélő mikroorganizmusainál ez a csökkenés erősen mérsékeltebb volt ($\mu_{\max} = -0,002$).

A kezeléseket túlélő mikroba csoportok maximális sejthozama (y_{\max}) lényegében nem különbözött egymástól a vizsgált koncentráció tartományban (19. ábra). A regressziós egyenesek meredekségét összehasonlítva azonban megállapítható volt, hogy az összes élő mikrobák és az enterobaktériumok csoportjához tartozó egyenleteknél a meredekségi értékek alig különböztek egymástól ($y_{\max} = -0,026$, illetve $-0,020$). A pszeudomonász csoportnál ez az érték $-0,088$ volt. A túlélő mikroorganizmusok maximális sejthozamát a kezelés tehát nem befolyásolta.



19. ábra: Csirkeszárnny mezofil aerob mikroorganizmusainak a pszeudomonászoknak és az *Enterobacteriaceae* csoportba tartozók szaporodásakor elért maximális sejtszáma a Na_3PO_4 oldat koncentráció függvényében

5.3.2. A trinátrium-foszfát mártó oldatos kezelés hatásának értékelése.

A baromfihús vágóhídi feldolgozása során a termék mikrobiológiai szennyezettsége viszonylag nagy, általában 10^4 - 10^6 g^{-1} . Az élelmiszerek nagy kezdeti csíraszama az eltarthatóságot, különös tekintettel a húsokét, jelentősen csökkenti. Ezért alapvetően szükséges a jó gyártási gyakorlat, a higiéniai előírások megtartása. A tapasztalatok ugyanakkor azt mutatják, hogy a feldolgozási technológiába célszerű beiktatni egy csíraszám csökkentési technológiai lépést, ami szerves része kell, hogy legyen a technológiának. Ez a szakasza a feldolgozásnak, a technológiának

az élelmiszerek mikrobiológiai állapotát javítja, a romlási folyamatokat lassítja, a nagy valószínűséggel jelenlévő betegségkókozó mikrobák számát, aktivitását csökkenti. A húsok eltarthatósága, az állat fajától függően hűtőszekrény hőmérsékleten legfeljebb néhány nap. A romlást okozó hidegtűrő baktériumok mellett ugyanakkor jelen lehetnek hidegtűrő betegségkóközők is, illetve ezek a hűtőtárolási körülményeket átvészelik. A különböző mikrobaszám csökkentési eljárásoknak ennek következtében a tárolási idő meghosszabbításán túl, ilyen jelentősége is van.

Kísérleteim alapján azt a következtetést vontam le, hogy a trinátrium-foszfátos mártóoldat 7,6 %-os alkalmazása 1 perces időtartammal és aerob csomagolás mellett 4°C hőmérsékleten tárolva a húst, az eltarthatóságot jelentősen megnöveli: a kezeletlenével szemben, legalább ötszörösére. Közvetlenül a kezelést követően a mikrobás szennyezettség két nagyságrenddel csökken, s így a kritikus 10^7 g^{-1} sejtszámot, ami a romlás kezdetét jelenti, sokkal később éri el, megnövelve ezzel a tárolhatósági időt. Azt is megállapítottam, hogy ennél nagyobb koncentráció a csíraszámot, s így az eltarthatóságot lényegében nem befolyásolja. Hasonló eredményekről számol be néhány irodalmi hivatkozás is (Salvat et al., 1994; Slavik et al., 1994; Sommers et al., 1994; Kiss et al., 1995; Genigeorgis, 1999; Salvat et Colin, 1999), megerősítve a fontosságát azzal a kezeléssel, hogy a patogén mikrobák pusztulását is okozza (Lillard, 1994; Kim et al., 1994; Kiss et al., 1995; Xiong et al., 1998).

A trinátrium-foszfát mártóoldat mikrobaölő hatása a nagy pH értéken alapszik. A lúgos kémhatás a mikrobák sejtfalán lyukakat képez és ezeken a mikrobák citoplazmája kifolyik, ennek következtében a sejtek elpusztulnak. Megállapítottam, hogy a kezelést túlélő mikroorganizmus csoportok, amiket vizsgáltam, mezofil aerob összes élő mikrobák, pszeudomonászok és enterobaktériumok maximális szaporodási sebességét a növekvő trinátrium-foszfát koncentráció csökkentette, és/vagy a túlélő frakció szaporodási sebessége más volt, kivéve a pszeudomonászokét. A mezofilok számának csökkenésében nyilván szerepet játszik az enterobaktériumok szaporodásának a csökkenése is.

A mikrobacsoportok szaporodási sebességének csökkenéséből arra lehet következtetni, hogy a mikroba populációban rezisztencia megoszlás létezik a trinátrium-foszfátos kezeléssel szemben. Az érzékenyek pusztulása, tehát a csíraszám csökkenése mellett, a rezisztensebbek, a túlélők frakciója kisebb szaporodási sebességét mutat. Ennek következtében ez a frakció később éri el a romlási kritériumot jelentő 10^7 g^{-1} mikroba szennyezettséget, és így az eltarthatósági idő megnő. Ugyanakkor megállapítható volt, hogy ugyanezen csoportok túlélő frakciójának a maximális sejthozamát, a nagyobb trinátrium-foszfát koncentráció gyakorlatilag nem befolyásolta.

6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Az ionizáló sugárzás, 2 kGy dózissal a polietilén fóliába (aerob) csomagolt, és 8-10 °C hőmérsékleten tárolt, csirkeszárny relatív eltarthatósági idejét 5-6-szorosára, a vákuumcsomagolással, 2-3 °C hőmérsékleten tárolva a mintákat 12 szeresére növelte. Az enterobaktériumok számát 4,5-5 nagyságrenddel csökkentette, és csak 15 nap után érte el a 10^5g^{-1} értéket.

2 A nagy hidrosztatikus nyomás a vagdalt csirkemell mezofil mikrobaszámát 120-150 MPa tartományban már csökkenti, 300 MPa hatására eléri a három nagyságrendet. A kezelést nizzinnel kombinálva (670IUg^{-1}), a csökkenés itt eléri az öt nagyságrend pusztulást. A pszeudomonászok érzékenyebbek (75 MPa), 200 MPa négy nagyságrend csökkenést eredményezett. A *Listeria monocytogenes*-szel beoltott vagdalt marhahúsban a telepszám 250 MPa érték körül már csökkent, 450 MPa-nál elérte a hat nagyságrendet. A nizin hatásmenővelése alig volt mérhető.

3. A nagy hidrosztatikus nyomás hatására a nem hőaktívált hidegtűrő *Bacillus cereus* dormans spóra vagdalt marhahúsban nagyon rezisztens ($D_{10} = 769,2 \text{MPa}$). A nagy nyomású kezelést követően a két hetes 4°C hőmérsékleten tárolt mintánál a túlélési görbe alapján rezisztencia csökkenés volt megállapítható ($D_{10} = 294,1 \text{MPa}$), ami a károsodott sejtek tárolás alatti pusztulására utal.

A hőkezelt spóráknál (80°C, 10 min) a $D_{10} = 588,0 \text{MPa}$ volt, ami a 16 napos 4°C-on való tárolást követően $D_{10} = 1000 \text{MPa}$ értéknek adódott a korrelációs egyenesből számítva. Ebből arra lehet következtetni, hogy a hő-, és az azt követő nyomáskezelt populációban, a feltehetően szubletálisan sérült sejtformák sérüléseiket kijavították a tárolási idő alatt és ennek következtében lehetett a kiindulásival azonos, illetve a vizsgálati módszer hibájából adódóan nagyobb telepszámot megállapítani.

4. A 7,6 %-os trinátrium-foszfát vizes oldata az egy perces mártási idő alkalmazásával a csirkeszárny mezofil aerob mikrobáinak, az enterobaktériumoknak és a pszeudomonászoknak a számát 2,5 nagyságrenddel csökkenti, a relatív eltarthatóság 5,4-szeresére növekedett a kezeletlenéhez viszonyítva a 3-4°C tárolási hőmérsékleten. A különböző mikroba csoportok a kritikus romlási határértéket más-más időpontban érték el, s így az eltarthatósági idő megnővekedett.

5. A csirkeszárny mezofil aerob mikrobái, az enterobaktériumok és a pszeudomonászok növekedési adataira illesztett szaporodási görbék egyenletei alapján végzett regressziós számítási adatokból megállapítható, hogy a mezofil aerobok és az enterobaktériumok szaporodási sebessége a trinátrium-foszfát koncentráció függvényében csökkent, a pszeudomonászoké gyakorlatilag alig változott, a maximális sejthozamban a csoportok között lényeges különbségeket nem észleltünk.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

Az ionizáló sugárzás hatását vizsgáltam csirkeszárny eltarthatóságának növelése céljából aerob-, és vákuumcsomagolt mintáknál 8-10 °C ill. 2-3 °C hőmérsékleten tárolva a sugárdózis függvényében.

Megállapítottam, hogy aerob csomagolásnál, polietilén fóliát alkalmazva, a mezofil aerob mikroorganizmusok száma az 1 és a 2 kGy dózis hatására 1, illetve 2 nagyságrendet, a 3 és 4 kGy alkalmazásánál a csíraszám már csak körülbelül további fél nagyságrendet csökkent. A romlás kezdetét jelentő 10^7 g⁻¹ kritikus sejtszámot 6, illetve 8 nap után érték el. A nagyobb dózisoknál ez az érték nagyobb volt, mint 12 nap. A 3 és 4 kGy dózissal kezelt mintáknál a mikrobák szaporodása később indult meg, mintegy öt nap után kezdődött. Vizsgálataim során megállapítottam, hogy 2 kGy hatására a minták relatív eltarthatósága a kezeletlenéhez viszonyítva 5-6-szoros, nagyobb dózisonál természetesen nagyobb értékeket kaptam.

A vákuumcsomagolt mintáknál (tárolási hőmérséklet 2-3 °C) 1 kGy hatására közel három, 2 kGy-nél pedig négy nagyságrend mikrobaszám csökkenést észleltem. A romlást jelentő határértéket az 1 és 2 kGy-vel kezelt minták a 15. és a 16. napon érték el. A 4 kGy-vel kezelt mintánál a mikrobaszám kisebb volt, mint 10^2 g⁻¹. Az enterobaktériumok száma az 1 és 2 kGy hatására 4, illetve 5 nagyságrendet csökkent, s a tárolás 14 napján érte el a 10^5 g⁻¹ sejtszámot. A pszeudomonászok érzékenysége besugárással szemben jól megmutatkozott, négy nagyságrend csökkenést állapítottam meg, és több, mint három hét után is alig nőtt fél nagyságrendet. Az eltarthatósági idő 2 kGy hatására több, mint három hét, vagyis a relatív eltarthatóság közel tizenkétszeresére nőtt a nem besugárazott mintával szemben. Az ennél nagyobb sugárdózis alkalmazása ennél hosszabb időt biztosít, de az irodalomból ismert adatok szerint itt már érzékszervi elváltozások is vannak.

Az eredmények alapján a vákuumcsomagolt, 2 kGy dózissal besugárazott csirkeszárny relatív eltarthatósága 2-3 °C hőmérsékleten 12- szeres, ami messze kielégítő eredményt jelent.

A nagy hidrosztatikus nyomás hatását vizsgálva megállapítottam, hogy vagdalt csirkemellben a mezofil aerob összcsíraszám 120-150 MPa értéknél már jelentkezik, 300 MPa-nál elérte a három nagyságrend csökkenést, nizzinnel kombinálva (670 IU g⁻¹) ez a változás 300 MPa-nál öt nagyságrendet ért el. A pszeudomonászok számának csökkenése 75 MPa-nál megindult, 200 MPa értéknél pedig 4,5 nagyságrend volt a változás. Ezekben az értékekben a nizin jelenléte nem változtatott.

A *Listeria monocytogenes* telepkepző képessége vagdalt marhahúsban 200 MPa nyomás értékig nem változott, ennél nagyobb nyomásnál viszont gyorsan csökkent, 300 MPa-nál elérte a

három nagyságrendet, amennyiben a kezelést megelőző hőmérséklet 20-24 °C , a nizin jelenlétében ez a hatás egy nagyságrenddel nagyobb volt. Amennyiben a tárolási hőmérséklet a kezelés előtt 4°C volt, a csíraszám 200 MPa-ig konstans értéken maradt nizin nélkül és nizzinnel is, de ezt követően a növekvő nyomás függvényében nagyarányú pusztulást állapítottam meg. A kezeléseket túlélő telepszámból meghatározott regressziós egyenesekből kiszámítottam tizedrecsökkenéshez (D_{10}) szükséges nyomásértéket, a nyomásérzékenységet. A tizedrecsökkenési nyomásérték 37 MPa volt, a nizzines kombinációnál a hatásban gyakorlatilag nem volt különbség.

Megvizsgáltam aprított marhahúsban a nagy hidrosztatikus nyomás hatását 0-800 MPa nyomástartományban egy hidegtűrő *Bacillus cereus* spórára. A dormans spórákból a nyomáskezelést követően, a spóraszám meghatározásnál alkalmazott hőaktiválás után csak kismértékű telepszám csökkenést, valamivel nagyobb, mint egy nagyságrend változást tapasztaltam, a nizin jelenléte ezt nem befolyásolta. A két hetes tárolás után viszont minden nyomás értéknél kisebb telepszámot kaptam, a 800 MPa-nál több, mint két nagyságrenddel kisebbet. A nyomásérzékenység itt 769,2-ről 294,1 MPa értékre, közel a felére csökkent, tehát itt érzékenység fokozódást lehetett észlelni.

Egy másik vizsgálatban megállapítottam, hogy a 80 °C hőmérsékleten a 10 perces hőkezelést (a dormans spórák hőaktiválásának felel meg, csírázás iniciálás) követő nyomás a baktérium spóra telepképző tulajdonságát a nyomás függvényében csak egy nagyságrenddel csökkentette. A nizin kihajtásgátló hatása ebben az esetben nem tud érvényesülni, ezért jelenléte a vizsgálati rendszerben nem volt mérhető. A kezelést követő 16 nap után, másfél nagyságrend változás volt megállapítható. Ez a nagyobb sejtszám, esetleg a szubletálisan sérült sejtformák a repair mechanizmus révén módosultak vagy a vizsgálati módszer hibájából adódhatott.

A trinátrium-foszfát mártó oldat mikrobaszám csökkentő hatását vizsgáltam 0-15 %-os koncentráció tartományban, a húst a kezelés után aerob csomagoltam és 3-4 °C hőmérsékleten tároltam. A mezofil aerob mikrobák száma 10 % koncentráció hatására 1,5 nagyságrendet csökkent és közel azonos értéket kaptam a 15 %-os kezelésnél is. Hasonló mértékű változást állapítottam meg mind a pszeudomonász-, mind az enterobaktérium-szám meghatározásánál is. A mikrobák túlélési görbéiből arra a következtetésre jutottam, hogy a mikrobaszám csökkentésére a trinátrium-foszfát oldat optimális koncentrációja 5 és 10 % között van. Ezt követően végzett kísérleteimben a 0 és 7,6 % koncentráció tartományban tanulmányoztam a mikrobák pusztulását, illetve szaporodásukat.

A kezelést követően a tárolási idő függvényében meghatároztam a túlélők (mezofil aerob összcsíra, pszeudomonász- és enterobaktérium-) telepszámának alapján az illesztett szaporodási görbéket. Ezek segítségével az alábbi következtetéseket vontam le: A legnagyobb mikrobaszám

csökkenést a 7,6 %-os mártóoldat alkalmazásánál (kezelési idő 1 perc) kaptam, 2 -2,5 nagyságrend. Ez az érték azonos volt a mezofil aerob és a pszeudomonász mikrobáknál. Az enterobaktériumok száma egy nagyságrenddel csökkent, de hányaduk a mikrobiotában kisebb jelentőségű a romlás szempontjából, ezek azonban potenciálisan az egészségre veszélyes mikrobák.

A kezelés célja a mikrobaszám csökkentés révén az eltarthatósági idő növelése volt. A mikrobiológiai romlás megállapítására elsősorban a mezofil aerob mikrobák 10^7 g^{-1} számát, mint határértéket jelöltem meg, illetve ennek az eléréséig eltelt időt. Az így kapott eltarthatósági idő birtokában kiszámítottam a relatív eltarthatóságot, ami a 7,6 %-os mártóoldat alkalmazásánál a kezeletlenéhez viszonyítva legalább ötszörösére nőtt. A betegség okozó mikrobák számának csökkentése ugyanakkor hozzájárul az élelmiszerbiztonság növeléséhez. Eredményeim azt bizonyítják, hogy az irodalomból ismert és a gyakorlatban alkalmazott 10 %-os trinátrium-foszfátos mártóoldat helyett, a 7,6 %-os oldattal való kezelés ugyanolyan jó eredményt ad.

Az illetett szaporodási görbék ismeretében meghatároztam a vizsgált három mikrobacsoport maximális szaporodási sebességét az oldatkoncentráció függvényében.

Megállapítottam, hogy a pszeudomonászok szaporodási sebességét ez alig, de a mezofil aerobokét és az enterobaktériumokét jelentősen befolyásolja. Az adatokból valószínűsíthető, hogy a mikrobacsoportok szaporodási sebességében mutatkozó különbségek, a populációban a trinátrium-foszfát hatására mutatkozó nagyobb rezisztencia megoszlással indokolhatók. Ennek következménye, hogy a mikrobapusztuláson túl, a túlélő frakció kisebb szaporodási sebessége következtében a kritikus romlási határérték eléréséhez hosszabb idő szükséges, az eltarthatósági idő így megnő.

A vizsgált tárolási időtartamban a különböző csoportoknál a szaporodási görbék alapján a regresszió vizsgálatok nem mutattak különbséget az elérhető maximális sejthozamban, tehát a kezelések a vizsgált mikroorganizmusok maximális sejthozamát nem befolyásolták, viszont a kezeltéknél ez a maximális érték elérése később következett be.

8. SUMMARY

Effect of ionizing radiation on the shelf-life extension of chicken wing was investigated as a function of irradiation dose in samples packed aerobically and in vacuum, and stored at 8-10 °C and 2-3 °C, respectively.

I established that in samples packed aerobically in polyethylene foil the count of mesophilic aerobic micro-organisms decreased by 1 and 2 orders of magnitude as an effect of 1 and 2 kGy doses, respectively. As a result of 3 and 4 kGy doses the cell count decreased merely by further half log cycle. Critical contamination level of 10^7 g⁻¹ CFU indicating the onset of spoilage was reached after 6 and 8 days, respectively. This period was longer for higher doses, namely 12 days. Microbes started to multiply approx. 5 days later in samples treated by 3 or 4 kGy doses. I found that relative shelf-life of samples irradiated by 2 kGy increased by 5-6 fold compared to the control ones. For higher doses I obtained obviously higher values.

In vacuum packaged samples (stored at 2-3 °C) I observed 3 log cycles decrease in the cell count after irradiation by 1 kGy, while irradiation by 2 kGy caused 4 log cycles reduction. In samples treated by 1 or 2 kGy the critical contamination level was reached after 15 and 16 days, respectively. Cell count was lower than 10^2 g⁻¹ in samples treated by 4 kGy. Irradiation by 1 or 2 kGy reduced enterobacteria count by 4 and 5 orders of magnitude, respectively, and it was 10^5 g⁻¹ on the 14th day of storage. Sensitivity of pseudomonads to irradiation could be well detected. I measured 4 log cycles reduction and even after three weeks of storage the pseudomonads count increased only by half order of magnitude. Shelf-life was longer than three weeks when the sample was irradiated by 2 kGy, that is, relative shelf-life was 12 times longer than that of the control sample. Use of higher radiation doses ensures longer shelf-life but according to literature data it induces organoleptic changes.

Based on the results ionizing radiation by 2 kGy dose increased the relative shelf-life of vacuum packaged chicken wings stored at 2-3 °C by 12-fold, which is a more than satisfactory result.

Examining the effect of high hydrostatic pressure I found that mesophilic aerobic cell count in chopped chicken breast already decreased at 120-150 MPa, 300 MPa caused 3 log cycles reduction, 300 MPa treatment combined with nisin (670 IU g⁻¹ concentration) resulted in 5 orders of magnitude change. Pseudomonads cell count started to decrease already at 75 MPa, at 200 MPa the change was 4,5 orders of magnitude. Nisin had practically no effect on these values.

Colony-forming ability of *Listeria monocytogenes* in chopped beef didn't change up to 200 MPa, at higher pressures it decreased rapidly, at 300 MPa it was 3 orders of magnitude if the

temperature prior to the treatment was 20-24 °C. In the presence of nisin this effect was stronger by one order of magnitude. When the storage temperature prior to treatment was 4 °C cell count remained constant up to 200 MPa with and without nisin as well, but thereafter I found considerable decay as a function of increasing pressure. Barosensitivity, the pressure needed to produce decimal reduction (D_{10}) was calculated from the regression lines determined from the count of surviving colonies. Decimal reduction pressure was 37 MPa, in combination with nisin practically no difference could be detected between the effects.

I examined the effect of high hydrostatic pressure in the pressure range of 0-800 MPa on psychrotrophic *Bacillus cereus* spores in chopped beef. After pressurization the dormant spores only a small decreased in the colony count, it was only approximately one log cycle. Addition of nisin had no effect. Following two weeks of storage I detected lower colony counts for each pressure level, in samples treated by 800 MPa it was lower by 2 orders of magnitude. Barosensitivity decreased from 769,2 MPa to 294,1 MPa, it dropped almost to half of the initial value, so a stronger pressure sensitivity could be observed.

In another series of experiments I established that heat treatment at 80 °C for 10 min (heat-activation of dormant spores, initiation of germination) following the pressurization decreased the colony-forming ability of bacterial spores only by one order of magnitude. Inhibitory effect of nisin on germination could not assert itself thus its presence could not be measured. On the 16th day after the treatment a 1,5 log cycle change could be detected. The higher cell count may have resulted from the repair mechanism of the presumably sub-lethally damaged cells or from the error of the test method.

I studied the effect of trisodium-phosphate dipping solution in the concentration range of 0-15% on the reduction of microbes. Meat was aerobically packed following dipping and stored at 3-4 °C. Count of mesophilic aerobic bacteria decreased by 1,5 log cycles as an effect of 10% concentration and similar results were obtained after the treatment by 15% solution. Changes of similar degree were found both for pseudomonads and enterobacteria counts. I concluded from the survival curves of microbes that the optimal concentration of trisodium-phosphate solution to decrease cell count is between 5 and 10%. In my next experiments I studied the death and growth of bacteria, respectively, in the 0-7,6% concentration range.

After the treatment I determined the fitted growth curves based on the colony counts of surviving bacteria (mesophilic aerobic microbes, pseudomonads, enterobacteria) as a function of storage time. I concluded the followings: highest decrease, namely 2-2,5 log cycles, in the cell count was achieved by dipping in the 7,6% solution (1 min treatment time). This value was the same for mesophilic bacteria and pseudomonads. Enterobacteria count decreased by 1 order of

magnitude, but their ratio in the microbiota is of less importance from the viewpoint of spoilage however, these micro-organisms are potentially hazardous for health.

The aim of the treatment was to extend shelf-life by decreasing the microbial count. For the determination of spoilage I fixed the 10^7 g^{-1} count of mesophilic aerobic microbes as a contamination limit and the time during which this limit was reached. Knowing the shelf-life obtained this way I calculated the relative shelf-life, that increased by at least 5-fold when the 7,6% dipping solution was used compared to that of the untreated sample. At the same time reduction of pathogenic bacteria count contributes to the improvement of food safety. My results prove that treatment by the 7,6% trisodium-phosphate dipping solution ensures the same efficiency as the 10% solution, known from the literature and used in practice.

Knowing the fitted growth curves I determined the maximum growth rate of the three microbe groups as a function of the solution concentration.

I established that the growth rate of pseudomonads is only slightly affected by this but that of mesophilic aerobic bacteria and enterobacteria is strongly influenced. It is probable from data that differences in the growth rates of microbe groups can be explained by the higher resistance distribution within the population appearing as an effect of trisodium-phosphate. As a consequence, besides microbial destruction, longer time is needed to reach the critical contamination limit owing to the lower growth rate of the surviving fraction, thus shelf-life is extended.

Regression analyses based on the growth curves didn't show any differences in the maximum cell count yield during the examined storage period, consequently, the treatments didn't affect the maximum cell count yield of the tested micro-organisms, but there was a delay in reaching this maximum value in the treated samples.

9. RESUMEN

Reducción de la contaminación microbiana de las carnes.

Investigó el efecto de las radiaciones gamma (^{60}Co) con el objetivo de alargar la vida útil de alas de pollo empacadas al vacío, aeróbicamente y mantenidas a 2-3 °C y 8-10°C respectivamente en función de la dosis irradiada.

Determiné, que el empaque aerobio polietileno para una irradiación de 1 y 2 kGy, el número total aerobio mesófilo se redujo en 1 y 2 unidades decimales respectivamente, en el caso de 3 y 4 kGy se redujo en media unidad decimal las UFC. El inicio de un deterioro significativo se da al alcanzar el valor crítico de 10^7 UFC g^{-1} , después de 6 y 8 días. En dosis altas, este valor fue mayor a 12 días. En muestras expuestas a 3 y 4 kGy el crecimiento se retrasó, casi 5 días. Además, encontré que las muestras expuestas a 2 kGy su tiempo relativo de almacenaje, en comparación con las no tratadas, aumentó 5-6 veces más, y que a altas dosis naturalmente corresponden altos valores.

En muestra empacadas al vacío (temperatura de almacenaje 2-3°C) encontré, que las expuestas a 1 kGy se logró una reducción microbiana cercana a las 3 unidades decimales, y a 2 kGy de 4 unidades decimales. Las muestras tratadas con 1 y 2 kGy en el 15. y 16. día alcanzaron un deterioro significativo. Sin embargo aquellas tratadas con 4 kGy el número de colonias fue menor a 10^2 UFC g^{-1} . El número de enterobacterias se redujo en 5 y 4 unidades decimales para las expuestas a 2 y 1 kGy respectivamente, logrando alcanzar un número de 10^5 UFC g^{-1} a los 14 días. La sensibilidad de pseudomonas frente a la radiaciones gamma se reflejó bien al mostrar una reducción de 4 unidades decimales. Así como, al cabo de 3 semanas se redujo en media unidad decimal. El tiempo de conservación por efecto de 2 kGy se incremento más de tres semanas, o sea el tiempo relativo de almacenaje fue de casi 12 veces más, frente a las no irradiadas. La utilización de dosis más altas aseguran tiempos más extensos, pero la literatura científica recoge datos, según los cuales se tienen cambios organolépticos significativos.

Con base en los resultados, la vida útil relativa en muestras de alas de pollo expuestas a dosis de 2 kGy, empacadas al vacío y mantenidas a 2-3 °C fue de 12 veces, lo que a la larga significa un resultado satisfactorio.

Investigando el efecto de altas presiones hidrostáticas (HHP) determiné, que en pechuga de pollo molida a 120-150 MPa el número total aerobio mesófilo ya es detectable la reducción, y a 300 MPa se reduce en 3 unidades decimales. El efecto de la nisina (concentración de 670 IU g^{-1}) usada en combinación con el HHP a 300 MPa logra una reducción de 5 unidades decimales. La

disminución del número de pseudomonas se da a 75 MPa, a una presión de 200 MPa el cambio fue de 4,5 unidades decimales. Estos valores no cambiaron en presencia de la nisina.

La capacidad de formación de colonias de *Listeria monocytogenes* presente en carne de vaca molida a una presión de 200 MPa no cambió, pero a una presión mayor rápidamente decreció. A 300 MPa alcanza una reducción de 3 unidades decimales, en cuanto que la temperatura previa al tratamiento fue de 20-24 °C y con nisina este efecto fue mayor en una unidad decimal. Cuando la temperatura de almacenamiento pre-tratamiento fue de 4 °C, el recuento total hasta los 200 MPa fue constante, con o sin adición de nisina. Seguidamente encontré un exterminio a mayor escala en función del incremento de la presión. Del número de colonias sobrevivientes, como de las curvas de regresión calcule la presión de reducción decimal (D_{10}) de las esporas, la sensibilidad a la alta presión. El valor de presión de reducción decimal fue de 37 MPa, mientras que en combinación con la nisina el efecto no mostró ser un factor determinante en la destrucción.

Analiqué en carne molida de vaca el efecto del HHP en el intervalo de presión de 0-800 MPa sobre el microorganismo psicrotrofo esporulado *Bacillus cereus*. Seguidamente del tratamiento a presión de las esporas en dormancia de *Bacillus cereus*, y luego de una activación térmica pre-tratamiento obtuve el número de UFC encontrando, que la reducción mínima fue ligeramente mayor a 1 unidad decimal. La presencia de nisina no afectó este resultado. Sin embargo, dos semanas después en todos los valores de presión determiné un número de colonias menor, y a los 800 MPa encontré menos de 2 unidades decimales. La sensibilidad a la presión se redujo de 769,2 a 294,1 MPa, cerca de la mitad, es decir el aumento de sensibilidad a las altas presiones fue detectable.

En otra investigación determiné, que con un tratamiento térmico de 80°C durante 10 minutos (la spora en dormancia se activó para la germinación) previo al HHP la capacidad de formación de colonias de la bacteria esporulada en función de la presión, sólo se redujo en una unidad decimal. El efecto antigerminal de la nisina, en este caso, no puede verificarse, su efecto en el método de análisis no fue medible. A 16 días después del tratamiento se determinó una reducción de 1,5 unidades decimales.

Analiqué el efecto antibacteriano del fosfato trisódico (TSF) con disoluciones 0-15% de concentración en carne empacada aerobíamente y guardada a 3-4°C. El número total aerobio mesófilo se redujo en 1,5 unidades decimales por efecto de la concentración al 10% y casi el mismo valor se obtuvo con una concentración al 15%. Reducciones similares encontré en el número de pseudomonas como de enterobacterias. Con base en las curvas de sobrevivencia bacteriana determiné, que la disolución de TSP con concentración entre 5 y 10% es óptima en reducir el

número de colonias. Las investigaciones posteriores las realicé, tomando el intervalo de concentración de 0 a 7,6%, verificando la destrucción y crecimiento bacteriano.

Seguido al tratamiento y en función del tiempo de almacenamiento determiné, con base en el número de colonias (aerobio mesófilo, pseudomonas y enterobacterias) las curvas de ajuste de crecimiento. Con las cuales deduje las siguientes conclusiones: la mayor reducción en el recuento total la obtuve utilizando la disolución de 7,6% con un tratamiento de inmersión de 1 minuto, reducción de 2-2,5 unidades decimales. Este valor fue igual para los aerobios mesófilos y pseudomonas. Las enterobacterias disminuyeron en 1 unidad decimal, pero su proporción en la microbiota fue de menor importancia desde el punto de vista de la descomposición, son microorganismos potencialmente peligrosos para la salud.

El objetivo del tratamiento mediante reducción microbiana fue el prolongar el tiempo de vida útil. El deterioro microbiológico lo tome cuando se llega al nivel de crecimiento de recuento total aerobio mesófilo en el orden de 10^7 UFC g^{-1} como valor límite, o el tiempo transcurrido para alcanzar este valor. Conociendo el tiempo de vida útil calculé la vida útil relativa. En la aplicación de la disolución de inmersión de concentración de TSP al 7,6% la vida útil comparada a las muestras no tratadas se logró un incremento de al menos 5 veces más. La reducción de microorganismos patógenos al mismo tiempo contribuye en aumentar la seguridad alimentaria. Los resultados obtenidos demuestran que, de acuerdo a la literatura científica y con base en la investigación llevada a cabo la concentración aplicada de 7,6 % da tan buenos resultados, como la de 10% de TSP.

Conociendo las curvas ajustadas de crecimiento determiné la velocidad de crecimiento máximo de los 3 grupos de bacterias en función de la concentración de la disolución de TSP.

Encontré, que la velocidad de crecimiento de las pseudomonas apenas se afectó, pero la de aerobio mesófilos y las de las enterobacterias se ven afectadas significativamente. Los resultados muestran diferencias en la velocidad de crecimiento de los grupos de bacterias. En la población bacteriana por efecto del TSP muestra mayor resistencia justificable por distribución. Como resultado (más allá de la eliminación bacterial) de que las fracciones sobrevivientes tenían velocidades menores de crecimiento por esto, se requirió mayor tiempo para llegar al nivel crítico de deterioro, de esta forma se incrementó la vida útil.

El periodo de almacenamiento analizado en diferentes grupos, con base en las curvas de crecimiento por regresión no muestran diferencias en el rendimiento celular máximo. Por lo tanto, los tratamientos no afectaron los rendimientos máximos celulares de los microorganismos, pero en las muestras tratadas lograron llegar a este valor máximo más tarde.

10. MELLÉKLETEK

M1: IRODALOMJEGYZÉK

- de Alba, M., Bravo, D., Medina, M. (2012): High pressure treatments on the inactivation of *Salmonella Enteritidis* and the characteristics of beef carpaccio, *Meat Sci.* 92 pp.823-825.
- ANON. Treatment of poultry carcasses with chlorine dioxide, acidified sodium chlorite, trisodium phosphate and peroxyacids, Question N0 EFSA Q-2005-002, *The EFSA J.* 297 pp-1-27.
http://www.efsa.eu.int/science/catindex_en.html
- Balla, Cs., Farkas, J., Dalmadi, I. (2012): Developing in minimal processing of fruits, in: *Handbook of fruit processing*, Sinha, N.K., Sidhu, J.S., Barta, J., Wu, J.S.B., Cano, M.P. (Eds.) 2nd ed. Vol.2. pp.153-173. Wiley and Blackwell Ltd. Publ.
- Beczner, J., Vidács, I., Szerdahelyi, E., Fonberg-Brozek, M. (2003): The effect of irradiation, heat and high hydrostatic pressure on bacterial spores ***Acta Alimentaria* 32 (Suppl.) pp.67-78.**
- Church, N.(1994): Developments in modified-atmosphere packaging and related technologies, ***Trends in Fd Sci . and Technol.* 5 pp.345-352.**
- Clariana, M., Guerrero, L., Sárraga, C., Díaz, I., Valero, Á., Garcia-Regueiro, J.A. (2011): Influence of high pressure application on the nutritional, sensory and microbiological characteristics of sliced skin vacuum packed dry-cured ham. Effects along the storage period. ***Innovative Fd.Sci. and Emerging Techn.* 12 pp.456-465.**
- Deák, T.(Szerk.)(2006): *Élelmiszer-mikrobiológia*, pp.37-56. Mezőgazda Kiadó, Budapest
- Delves-Broughton, J.(1990): Nisin and its uses as a food preservative ***Fd.Techn.* 44 (11) pp.100-113.**
- Evans, J.A. (1999): Novel decontaminate treatments for meat ***Proc. of 8. New Technology for Safe and Shelf-stable Products*** (Ed.: Ellerbroek, L.) p.14-21.. COST ACTION 97. Berlin, Germany, 6-7 June 1998. EU Comm.
- Farber, J.M., Warburton, D.W., Gour, L., Milling, M. (1990): Microbiological quality of foods packaged under modified atmospheres, ***Food Microbiol.* 7 pp.327-334.**

- Farkas, J.(1996): Research work in the frame of COST Action 97 in relation to chemical or physical decontaminatin methods for poultry meat/carcasses, in: **5. Poultry and food safety** (Nagy, B.- Mulder, R.W.A.W. Eds.) pp.17-22 Budapest, Hungary 20-22.August1997. European Comm. EUR 18210 EN
- Farkas, J.(1997): Physical methods of food preservation, in: Food Microbiology, Fundamentals and Frontiers (Eds.Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Montville) pp.497-577. ASM Press, Washington
- Farkas, J., Mohácsi-Farkas, Cs. (2011): History and future of food irradiation, Trends in Fd.Sci. and Techn. 22 pp.121-126.D.C.
- Genigeorgis, C. (1999): Chemical methods for decontamination and preservation of poultry meat/carcasses, in: 7. Status and prospects of decontamination and preservation of poultry and egg products (Colin, P. and Mulder, R.W.A.W. Eds.) pp.17-35.. Zoopole, Ploufragan, France, 25-26. November 1996. European Comm. Cost Action 97. Luxemburg
- Gould, G.W. (2000): Strategies for food preservation, pp.19-35. Vol.1. in:The microbiological safety and quality of food (Eds. Lund, B.M., Baird-Parker, T.C., Gould, G.W.), Aspen Publ., Inc. Gaithesburg, Maryland
- Grebol, N. (2006): Hidrosztatikus, nagynyomású technológia alkalmazása húskészítmények gyártásánál, **A HÚS** (2) pp.97-98.
- Gould, G.W. and Sale, A.J.H. (1970): Initiation of germination of bacterial spores by hydrostatic pressure **J.Gen.Microbiol.** **60** pp.335-346.
- Gruiz, K., Kiss, I.(1987): Effect of ionizing radiation on the lipids in frozen poultry. I. Fatty acids and hydrocarbons **Acta alim.** **16** (2) p.111-129.
- Hahós, Gy., Szabó, E., Farkas, J. (2003): High pressure effects on structure and immunological cross-reactivity of meat proteins, **Acta Alimentaria** **32 Suppl.**pp.47-54
- Hassan, Y., Mészáros, L., Simon, A., Tuboly, E., Mohácsi-Farkas, Cs., Farkas, J.: (2002): Comparative studies on gamma radiation and high pressure induced effects on minced beef, **Acta Alimentaria.****31** (3) pp.253-264.
- Hinton, M.H. and Corry, J.E.L.(1997):): The decontamination of carcass meat, in: 5. Poultry and food safety (Nagy, B.- Mulder, R.W.A.W. Eds.) pp.23-31. Budapest, Hungary 20-22.August1997. European Comm. EUR 18210 EN

- Hoover, D.G., Metrick, C., Papineau, A.M., Farkas, D.F., Knorr, D. (1989): Biological effect of high hydrostatic pressure on food microorganisms, **Fd.Techn.** **43** pp.93-107..
- Hurst, A. (1983): Nisin and other inhibitory substances from lactic acid bacteria in: Antimicrobials in Foods (Eds. Branen, A.L. and Davidson, P.M. pp.327-351. Marcel Dekker, Inc. New York-Basel
- Incze, K. (2000): Húsok, húskészítmények, pp.144-153. in: A táplálkozás egészségkönyve (Hajós, Gy., Zajkás, G., Szerk.) Kossuth Kiadó, Budapest
- Ingram, M., Farkas, J. (1977): Microbiology of foods pasteurised by ionising radiation, **Acta Alimentaria** **7** (2) pp.123-185.
- ISO/TC 34/SC (2011): Food irradiation requirements for the development, validation and routine control of the ionizing radiation used for the treatment of food
- Kim, J.W., Slavic, M.F., Bender, F.G. (1994): Removal of *Salmonella typhimurium* attached to chicken skin by rinsing with trisodium phosphate solution: scanning electron microscopic examination **J.Fd.Safety** **14** pp.77-84
- Kiss, I.(Szerk.): Farkas, J., Kiss, I., Pulay, G.(1977): Mikrobiológiai vizsgálati módszerek az élelmiszeriparban. I. Mennyiségi vizsgálatok, 2. kiadás, pp.45-49, pp.88-100. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest
- Kiss, I.(1999): A nagy hidrosztatikus nyomás élelmiszeripari alkalmazása **KONZERVUJSÁG** (1). p.6-8.
- Kiss, I., Farkas, J.(1972): Radurization of whole eviscerated chicken carcass **Acta Alimentaria** **1** (1) p.73-86.
- Kiss, I.(Szerk.): Farkas, J., Kiss, I., Pulay, G.(1977): Mikrobiológiai vizsgálati módszerek az élelmiszeriparban. I. Mennyiségi vizsgálatok, 2. Kiadás, pp.45-49, pp.88-100. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest
- Kiss, I., Kovács-Proszt, G. (1981): Fizikai tényezők hatása a *Bacillus cereus* spórára Tud.Koll.KÉKI, nem publikált
- Kiss, I., Zachariev, Gy.(1981): Use of irradiation to increase shelf-life of minced-meat products, in: **Proc. of 27. Europäischer Fleischforscher-Kongress** 24-28 August 1981.(Ed.: O. Prandl) **Vol. 1.** p.344-346. Wien, Austria,

- Kiss, I., Kálmán, B., Farkas, J.(1970): Prolongation of the storage life of pork cuts by irradiation **Élelmiszertudomány 4** (1-2), p.17-26.
- Kovács-Domján, H., Kovács, S., Kiss, I.(1986): Ionizáló sugárzás hatása a baromfihús mikroflórájára, **Magyar Állatorvosok Lapja 41** (4). p.222-225.
- Kiss, I., Beczner, J., Zachariev, Gy. and Kovács, S.(1990): Irradiation of meat products, chicken and use of irradiated spices for sausages, **Radiat. Phys. Chem. 36** (3) p.295-299.
- Kiss I.F., Sveiczter, Á., Beczner, J., Tóth, Á., Fábián, A., Kaffka, K.(1994): Shelf-life extension of packed meat by irradiation. in: **Proc. of Food Irradiation in the Middle East and Europe**, IAEA-TECDOC-754. pp.59-75. IAEA, Vienna
- Kiss, I.F., Farkas, J., Kiss-Brückner, M., Simon, A., Andrásy, É., El-Amam, M.(1995): Effect of trisodium phosphate dip on survival and growth of spoilage flora and *Listeria monocytogenes* on skin of chilled broiler carcasses in: Poultry Products Microbiology European Regulations and Quality Assurance Systems. **Proc. XII. Europ. Symp. Poultry Meat and VI. Europ. Symp. Quality Eggs and Egg Prod., Proc. 2nd Ann. Meeting Ec COST WGNo. 2.** p.27-34., 1995.25-29 Sept. Zaragoza (Spain) (Ed.: R.C. Briz), Zaragoza.
- Kiss, I.F., Mohácsi-Farkas, Cs., Reichart, O., Mészáros,L.(1998): Prediction of microbiological shelf-life of chilled-irradiated meat in: **Proc. of Shelf Life Prediction for Improved Safety and Quality of Foods p.55-62. COPERNICUS Project CIPA-CT94-0120**, Wageningen, The Netherlands, November 27-28. 1997.
- Kiss, I.F., Farkas, J., Kiss-Brückner, M.,Andrásy, É.(1999): Reduction of Aerobic Viable Cell Counts and *Listeria monocytogenes* Inoculated onto Chicken Skin by Ionizing Radiation in: **Proc. of 8. New Technology for Safe and Shelf-stable Products** (Ed.: Ellerbroek, L.) p.44-51. COST ACTION 97. Berlin, Germany, 6-7 June 1998. EU Comm.1999.
- Kiss, I.F., Kovács-Domján, H., Mészáros, L. (2001): Reducing Microbial Contamination Including some Pathogens in Minced Beef by Irradiation, in: Irradiation for Food Safety and Quality (Eds. Loaharanu, P. and Thomas, P.) p.81-92. in: **Proc. of FAO/IAEA/WHO Int. Conf. on Ensuring the Safety and Quality of Food trough Radiation Processing**, 19-22 October 1999 Antalya, Turkey, TECHNOMIC Pub. Co., Inc., Lancaster,Basel
- Knorr, D. (1993): Effects of high-hydrostatic-pressure processes on food safety and Quality, **Fd.Techn. 47** (6) pp.156-161.

- Kovács, S., Kovács-Domján, H., Kiss, I. (1981): Radiosensitivity of some microorganisms on meat, in: **Proc. of 27. Europ. Fleischforscher-Kong.(Ed. O.Prandl) 24-28 August 1981. Vol.1.** pp.347-350.Wien, Austria
- Krommer, J., Szabó, G., Kiss, I. (2001): Effect of nisin on the stability of sausage, **Acta Microbiol. et Immunol. Hung. 48** (4) p.182. **Abstr.**
- Lambert, A.D., Smith, J.P., Dodds, K.I. (1991): Shelf life extension and microbiological safety of fresh meat-a review **Fd.Microbiol. 8** pp.267-297.
- Lámping, M. and Dolz, G. (2011): Evaluacion de la contaminacion de carne de pollo con *Campylobacter jejuni* en puntos criticos de control de riesgo, utilizando el metodo de cultivo convencional, **VETERINARIA 5** pp.42-44.
- Leistner, L.(2000): Use of combined preservative factors in foods of developing countries pp.294-314. Vol.1. in: The microbiological safety and quality of food (Eds. Lund, B.M., Baird-Parker, T.C., Gould, G.W.), Aspen Publ., Inc. Gaithersburg, Maryland
- Lillard, H.S. (1994): Effect of trisodium phosphate on *Salmonellae* attached to chicken skin **J.Fd.Prot. 57** pp.465-469.
- Lopez-Pedemonte, T.J., Rog-Segules, A.X., Trujilo, A.J., Capellas, M., Guarnis, B. (2003): Inactivation of spores of *Bacillus cereus* in cheese by high hydrostatic pressure with the addition of nisin or lysozyme, **J.Dairy Sci 86** (10) pp.3075-3081.
- Murrell, W.G., Wills, P.A. (1977): Initiation of *Bacillus* spore germination by hydrostatic pressure: effect of temperature, **J.Bact. 129** (3) pp.1272-1280.
- Norton, T., Da-Wen Sun (2008): Recent advances in the use of high pressure as an effective processing technique in the food industry, **Food Bioprocess Technology 1** pp.2-34.
- Patterson, M.F. (2005): Microbiology of pressure-treated foods, **J.appl.Microbiol. 98** pp1400-1408.
- Patterson, M.F., Linton, M., McClements, J.M. (1998): Pressure inactivation of pathogens in poultry meat in: 8. New technology for safe and shelf-stable products (Ellerbroek, L.Ed.) pp.90-96. Berlin, Germany, 6-7 June 1998. European Comm.-Cost EUR 19214 EN

- Pusztai, S., Propokovits, L., Erdész, S. (1976): Kísérletes vizsgálatok a baromfihús *Salmonella*-fertőzöttségének megszüntetésére sugárkezeléssel, **Magyar Állatorvosok Lapja** 31 (6) pp.356-359.
- Pauli, G.H. (2007): U.S. Regulatory requirements for irradiating foods, <http://www.foodsafety.gov/dms/opa-rdtk.html> 2007.04.03.
- (Rojas, X., Rojas, Y., Soto, L., Hernandez, F. (1996): *Campylobacter* sp. en pollos para consumo humano **Rev. Coste de Ciencias Medicas** 17 (1) pp.34-39.
- Reuben, A., Termino, H., Arias, M.L., Chaves, C. (2003): Presencia de *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* ssp. en alimentos de origen animal en Costa Rica, **Archivos Latinoamericanos de Nutrición** 53 (4) pp.389-392.
- Salvat, G., Coppen, P., Allo, J.C., Collin, P. (1994): Efficiency of some decontamination treatments on the microbiological flora of broilers, in: FLAIR No.6/COST no.906 14. **Hygienic aspects of processed poultry meat** (Collins, J.D., Hinton, M.H., Mulder, R.W.A.W. Eds.) pp.105-112. Dublin, Ireland 17-19 Febr. 1994. COVP-DLO 1994. Het Spelderholt Beekbergen, The Netherlands
- Simpson, R.K., and Gilmour, A. (1997): The resistance of *Listeria monocytogenes* to high hydrostatic pressure in foods **Fd. Microbiol.** 14 pp.567-573.
- Slavik, M.F., Kim, J.W., Pharr, M.D., Raben, D.P., Tsai, S., Lobsinger, C.M. (1994): Effect of trisodium phosphate on *Campylobacter* attached to post-chill chicken carcasses **J.Fd.Prot.** 57 pp.324-326.
- Smelt, J.P.P.M., (1998): Recent advances in the microbiology of high pressure processing, **Trends Fd.Sci.Techn.** 9 pp.152-158.
- Sommers, Ch.H. (2003): Irradiation of minimally processed meats, in: Microbial safety of minimally processed foods (Novak, J.S., Sapers, G.M., Juneja, V.K. Eds.) pp.301-318. CRC Press, Boca Raton
- Sommers, Ch.H., Schoeni, J.L., Wong, A.C.L. (1994): Effect of trisodium phosphate on *Campylobacter jejuni*, *Escheria coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium*, **J.Fd.Microbiol.** 22 pp. 269-276.

- Szeitzné-Szabó, M.(Szerk.) (2008): Élelmiszer-biztonsági helyzetelemzés és kockázatértékelés, pp.83-94. Agroinform Kiadó, Budapest
- Szeitzné-Szabó, M.(Szerk.) (2011): Élelmiszerbiztonság: tények, tendenciák, teendők, pp54-58. Agroinform Kiadó, Budapest
- Thayer, D.W., Dickerson, C.Y., Rao, D.R., Boyd, G., Chavan, C.B. (1992): Destruction of *Salmonella typhimurium* on chicken wings by gamma radiation ,**J.Fd.Sci.** **57** (3) pp.586-589.
- Villacis, M.F., Rastogi, N.K., Balasubramaniam, V.M. (2008): Effect of high pressure on moisture and NaCl diffusion into turkey breast, **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie** **41** pp.836-844.
- Vounakis, H. (2001): Food irradiation harmonization in European Union, in: **Safety and Quality of Food through Radiation Processing** (Eds.Loaharanu, P., Thomas, P.) Proc. of FAO/IAEA/WHO Int.Conf. on Ensuring the Safety and Quality of Food through Radiation Processing pp.26-31. TECHNOMIC Pub.Co.Inc. Lancaster, Basel
- Weber, H. (Hrsg.)(2003): Mikrobiologie der Lebensmittel, Fleisch-Fisch, Feinkost, pp.614-618. BEHR'S-Verlag GmbH. Hamburg
- Wills, P.A. (1974): Effects of hydrostatic pressure and ionising radiation on bacterial spores, **Atomic Energy in Australia** **17** (1) pp.2-10.
- Wills, P.A. and Clouston, J.G. (1973): Microbiological and entomological aspects of the food irradiation program in Australia, in: Radiation preservation of food, pp.231-259. Proc.Symp., Bombay 13-17 November 1972. IAEA/WHO, IAEA, Vienna
- Xiong,H.Li.Y., Slavik, M., Walker, J. (1998): Chemical spray condition for reducing bacteria on chicken skins **J.Fd.Sci.** **63** pp.699-701.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Először is szeretnék köszönetet mondani a családomnak a támogatásért, a türelemért és a segítségért, amit kaptam.

Köszönetemet szeretném kifejezni INSTITUTO TECNOLÓGICO DE COSTA RICA, hogy lehetővé tette számomra továbbtanulásomat a doktori fokozat megszerzésére Magyarországon, anyagai támogatást nyújtott és erkölcsileg segített.

Szeretném megköszönni **Dr. Farkas József** akadémikus tanszékvezető professzor úrnak, **Dr. Sáray Tamás** tanszékvezető professzor úrnak, **Dr. Balla Csaba** tanszékvezető egyetemi docens úrnak és **Dr. Friedrich László** tanszékvezető egyetemi docens úrnak és a **Hűtő- és Állattermék Technológiai Tanszék** munkatársainak a munkámhoz nyújtott önzetlen segítséget és a támogatást.

Köszönetet szeretnék mondani **Mészáros László** tanár úrnak és **Horti Krisztinának** a matematikai számításokban nyújtott segítségükért, külön köszönöm **Majoros Melindának** és **Zeke Ildikónak** segítségét.

Köszönet a **Corvinus Egyetem Doktori Iskolájának**, hogy lehetőséget kaptam arra, hogy folytathassam és az idén befejezhessem a doktori tanulmányaimat.

Külön köszönöm **Prof. Dr. Kiss István Ferenc** segítségét, támogatását, tanácsait és türelmét, mert az ő segítsége nélkül ma nem lehetnék itt Önök előtt.