

DOKTORI DISSZERTÁCIÓ TÉZISEI

(PhD)

NYUGAT-MAGYARORSZÁGI EGYETEM
MEZŐGAZDASÁG- ÉS ÉLELMISZERTUDOMÁNYI KAR
ÉLELMISZERTUDOMÁNYI INTÉZET

Programvezető:
Dr. SCHMIDT JÁNOS
MTA doktora

Témavezető:
Dr. habil. SZIGETI JENŐ
a mezőgazdsági tudomány kandidátusa

MINŐSÉGBIZTOSÍTÁS A HÍZOTT LIBAMÁJ ELŐÁLLÍTÁSÁBAN, KÜLÖNÖS TEKINTETTEL AZ ÉLELMISZERIPARI FELDOLGOZÁS FOLYAMATÁRA

Készítette:
TURCSÁN JUDIT

Mosonmagyaróvár
2005

1. BEVEZETÉS

A minőségügyi rendszerek bevezetésének ellenére Európában évről-évre nő az ételmérgezések száma. Ezzel egyidőben a fogyasztók egyre inkább a friss, természetes, konzerváló szerektől mentes, kevésbé hőkezelt termékeket keresik. Az élelmiszerek ún. lágy konzerválási eljárásainak előtérbe kerülése, a termék természetes mivoltának megőrzésére való törekvés a fogyasztónak, élelmiszer által közvetített patogén mikrobákkal való fertőződéséhez vezethet.

A magas csíraszámú, spórás, hőtűrő baktériumokkal is szennyezett nyersanyag mikrobiális minőségének javítása a továbbfeldolgozás során vagy csak igen erélyes hőkezeléssel/hőelvonással, vagy vegyi kezeléssel (pl.sózás) lehetséges. A hőkezeléssel tartósított élelmiszerek romlását elsősorban termotoleráns, termofil, spórás anaerob baktériumok okozzák.

A „hungaricum”-ként nyilvántartott nyers hízott libamájból készített libamájparfé leggyakoribb hibája éppen a fent említett okokból való túlzott hőkezelés (magas F_0 érték), valamint a parfé a túlzott hőkezelésből adódó ízromlása.

Több éves munkánk során kidolgoztuk a hízott libamáj-előállítás HACCP rendszerét a libatenyésztés folyamatától a parfé készítéséig.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

2.1. HACCP rendszer kiépítése

Hízott libamáj előállításának veszélyelemzését az orosházi Merian Finom Szárnyas Különlegességek Részvénytársaság baromfifeldolgozó üzemében végeztük. A baromfifeldolgozó-üzem vezetősége elkötelezett volt a minőségügyi rendszer kiépítésében, és annak legmagasabb színvonalon való betartásában és betartatásában. A feldolgozóüzemben a hízott liba és hízott libamáj előállításra 2000-ben készítettük el a HACCP rendszert.

A dolgozatban – az értekezés korlátozott karakter- és oldalmennyisége miatt - csak a kijelölt kritikus szabályozási pontok (CCP-k) megállapítását, a CCP-ken vett minták mikrobiológiai vizsgálatát és azok eredményeit, valamint a vágóvonalról és májakból izolált *Clostridium* speciesek hőpusztulás-vizsgálatát mutatjuk be.

A hízott libamáj előállítás HACCP rendszerének kidolgozása a 7 alapelv és a 12 lépcsős folyamat alapján alakítottuk ki. A HACCP csoport tagjai: üzem minőségügyi felelőse, higiénés szakember, üzemmérnök voltak.

A hízott liba feldolgozás és hízott libamáj-előállítás folyamatának megismerése után az előállítás lépéseit vizsgáltuk veszélyesség szempontjából. Az értékelés során a döntési fa menetét alkalmaztuk, mely alapján a hízott libamáj-feldolgozás folyamatának minden lépését megvizsgáltuk. Az így megállapított CCP-k jellegét (fizikai, kémia, biológiai, mikrobiológiai) is megállapítottuk.

A mikrobiológiai szempontból aggályos munkafolyamatokat kijelöltük, majd az adott lépésnél a mintákat megvizsgáltuk anaerob spórás baktériumok jelenlétére.

2.2. Clostridium fajok izolálása, azonosítása

2.2.1. Mintavétel

Clostridium spp. kimutatása a húsból az ÉTI-ML-SOP-VU-FM-C-2.1 és -2.2 (35§ LMBG, L-06.00-20, L-06.00-39) alapján történt. Minden üvegeszközt használatukat megelőzően alaposan tisztítottunk és sterilítettünk. (Autokláv - Webeco H-típus; LMIM ST 133 ($121\pm 1^\circ\text{C}$, $t=30\text{s}$), Hőlégmenterilező - LMIM ST 222/2 (min. 180°C , $t=3\text{h}$))

Az élőállatot beszállító teherautó padlózatának tíz különböző helyéről a libaürüléket Bactopick[®] steril műanyag mintavevő pálcák segítségével vettük, a mintákat azonnal steril stomacher zacskókba (*Seward, England*) helyeztük. A kopsztógépről vett szenny kezelése hasonló módon történt.

Zsigereles során a bontáskor kivett közvetlen, valamint az érezés utáni máj-mintavételt steril szikével végeztük, a vizsgálandó májakat steril stomacher zacskókba helyeztük. Májkonzerv-dobozok leoltásához tamponos mintavételt alkalmaztunk. A vett minták mennyisége minden esetben 5-5 db volt.

2.2.2. Clostridium fajok kimutatása

A mintákból készített decimális hígítási sor előállításához 1%-os peptonvizet (*MERCK, Germany*) használtunk. A hígítófolyadék hőmérséklete $10-20^\circ\text{C}$ volt. Az előkészített mintákat a steril Stomacher-tasakba 9-szeres mennyiségű konyhasó-pepton-oldattal (SPS) kiegészítettük, és a minta állagától függően beállított fokozattal és időtartammal homogenizáltuk. Az így elkészített törzsoldat (kiindulási hígítás) képezte a további vizsgálatához az alapot.

Libaürülék, valamint a kopasztógépről vett minta esetében a bemért mennyiség 1-1 g volt, melyet 9 cm³ steril peptonvízbe mértük be. Libamájak vizsgálatakor 10-10 g mintamennyiséghez 90 cm³ peptonvizet adtunk. Baktériumspórák vizsgálatára az így kapott 10⁻¹ hígításokat vízfürdőben 75°C-on, 15 percig hőkezeltük. Ezután a 10⁻⁵ fokig vitt hígítási sor minden tagjából 1-1ml mennyiséget Reinforced Clostridia (RC) agarral, valamint 15 ml mennyiségű, 50°C-ra hűtött TSC-agart (TSCA) lemezöntéses módszerrel, steril 9 cm átmérőjű üveg petricsészékbe leoltottunk. Független hígítási sorokkal dolgoztunk, ez mintánként 5 párhuzamost jelentett.

Az inkubálási idő 20-24 óra volt, 37°C hőmérsékleten, anaerob körülmények között: anaerob dobozban, anaerocult és anaerobic indicator felhasználásával (*OXOID, England*).

Clostridiumok csíraszámának megállapítása során azokat a lemezeket vettük figyelembe, amelyeken 15-150 telep nőtt ki. Kicsi és jól számolható telepek esetén legfeljebb 200 telepet tartalmazó lemezeket vettünk figyelembe. A legkisebb és az azt követő kiértékelhető hígítási szint telepszámaiból számítottuk a súlyozott középértéket (\check{c}).

A számítást a következő képlet alapján végeztük:

1. Egyenlet

$$\check{c} = \frac{\sum c}{n_1 * 1 + n_2 * 0,1}$$

Magyarázat:

\check{c} telepszám súlyozott középértéke,

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

n_1 a legalacsonyabb kiértékelhető hígítási fokhoz tartozó lemezek száma,

n_2 a következő kiértékelhető hígítási fokhoz tartozó lemezek száma.

A minta g- vagy cm³-kénti csíraszámát a \checkmark -értéknek a hígítási faktorial való szorzásával kaptuk. Az eredményt normál alakban adtuk meg, amit egy tizedesre kerekítünk. Ez az érték volt a végérvényes eredmény.

24 órás inkubációs idő után a táptalajon képződött fekete telepek leszámolása után mintánként két-két lemeztől 1-1 egyedülálló telepet átoltottunk Columbia véres agarra (*MERCK, Germany*). Véres agarra oltott telepeket mind aerob és mind anaerob körülmények között, 37°C-on, 20-24 órán át inkubáltuk.

2.2.3. *Clostridium* fajok azonosítása

Anaerob körülmények között nőtt telepek további vizsgálata *Clostridium* specierekre az alábbiak szerint történt:

- ✓ Bakteriális csillók meglétét vagy hiányát félfolyékony mozgásvizsgálat-táptalajon (ffNMOT) figyeltük meg, a táptalajba oltás, 24 órás, 37°C-on történő aerob inkubálás után.
- ✓ Laktóz-, zselatinbontást Laktóz-Zselatin (LG) agarba oltás, T=37°C, t=24h aerob inkubálás után ellenőriztük.
- ✓ Nitrát-nitrit redukció vizsgálatára ffNMOT táptalajt + nitrit reagenst használtunk.
- ✓ Szulfid redukáló képességet DRCM Differential Reinforced Clostridial Medium, *OXOID, England*) tápoldatban mutattuk ki.
- ✓ Bakteriális endospórák elhelyezkedésének vizsgálata Malachit-zöld festési eljárással.
- ✓ További biokémiai reakciók alapján való azonosítást rapid ID 32 A testkit (*bioMérieux, France*) segítségével végeztük, amely 29 biokémiai reagenst tartalmaz dehidratált formában. 37°C-on történő, 24 órás aerob inkubáció után a biokémiai reakciókat manuálisan, illetve ATB komputerezált rendszerrel értékeltük ki.

2.2.4. Növekedési hőmérséklet vizsgálata

Columbia agarról vett soliter telepeket Reinforced Clostridial Media (RCM; *OXOID, England*) tápoldatba oltottunk, majd 25, 30, 42, és 50°C-on 24 órán át anaerob körülmények között inkubáltuk. A baktériumok növekedését a kémcsövekben tapasztalt turbiditás meglétekor pozitívnak tekintettük.

2.2.5. ATB automata identifikáló rendszer alkalmazása

Ez az automataazonosító rendszer áll egy mérőegységből, a mérési eredményeket elemző computerből, valamint egy, a rendszerhez kapcsolt nyomtatóból. A mérőegység felismeri a tesztcsíkot, a mérést kolorimeter és/vagy nephelometer segítségével végzi. A számítógép az *ATB Identification Software* segítségével elemzi a mérőegységből kapott biokémiai profilt, a mérési eredményeket összehasonlítja az adatbázis rendszertani kategóriáival, majd az azonosítási százalék és a jellemzőségi index megadásával azonosítja a mikroorganizmust. Jónak tekintjük az azonosítást, amennyiben az identifikációs százalék (id%) 80 feletti, valamint a T érték 0,5-nél magasabb.

Az azonosítandó mikroba előkészítése a Rapid ID 32 A testkitre alkalmazhatóságához a következőképpen történt: Columbia véres agaron anaerob körülmények között nőtt szoliter telepből 2 ml 4 McF denzitású szuszpenziót készítettünk. A sűrűséget DENSIMAT (*bioMérieux*) segítségével állítottuk be. A szuszpenzióból automata pipettával 55µl mennyiséget oltottunk minden tesztlyukba. Az ureáz vizsgálathoz a lyukat steril ásványi paraffin olajjal fedtük.

A testkit-et aerob körülmények között, 37°C hőmérsékleten, 4 óra hosszat inkubáltuk. Az inkubációs idő után a kit "0.0" jelű lyukába nitrát-redukció

vizsgálatához Nitrát-reagenst (NIT1+NIT2) cseppentettünk. Az indol képzés, valamint az alkalikus-foszfátáz enzim jelenlétének kimutatásához JAMES ill. FB (fast blue) reagenst adtunk a "0.1" ill. "0.2" számozású tesztlyukakba. 5 perc reakció idő után a kit-et ráhelyeztük az automata azonosító rendszer leolvasó asztalára.

2.2.6. Törzsfenntartás

Az izolált *Clostridium* fajok azonosítása után 20 cm³-es, fémkupakos kémcsőben, 10 cm³ RCM tápoldatban (*OXOID, England*), anaerob körülmények között tartottuk fenn a törzset. Anaerob körülményeket ebben az esetben steril paraffinolaj tápoldatra rétegzésével hoztunk létre. A törzset havonta átoltottuk frissen készített RCM tápoldatba.

2.3. Izolált termofil *Clostridium* species spóráinak hőpusztulás vizsgálata

2.3.1. *Clostridium* fajok spóráinak hőpusztulás vizsgálata

80°C-os, 10 perces tartó hőkezelés után a *Clostridium* fajok spórakoncentrációjának decimális hígítását 1%-os pufferolt peptonvízzel végeztük, 10⁻⁷ hígítási fokig. A kezdeti spóraszám meghatározáshoz Bürker kamrában történt spóra-szám megállapítása után az alaphígításból párhuzamos felületi szélesztéssel (0,1 cm³ inokulum) leoltást végeztünk TSC agarra.

A *Clostridium* spórák hőpusztulásának vizsgálatát 85, 95, 105, valamint 115°C-on, 1, 3, 5, 10, 20 és 30 perces hőbehatási idővel végeztük. A 85°C, 95°C hőmérsékletet vízfürdőben, a 105 valamint a 115°C-on tartást olajfürdőben biztosítottuk.

A libamáj fizikai jellemzőit igyekezve imitálni, a *Clostridium* spórákat glicerinnel desztillált vízzel előállított, 0,982 vízaktivitású, 5,5±0,2 pH értékű elegybe oltottuk.

Hőkezelés után 1%-os pufferolt peptonvízzel 3 párhuzamos hígítási sort készítettünk, a hígítási sor adott tagjaiból 1-1 cm³-t steril, 9 cm átmérőjű üveg petricsészébe pipettáztunk, majd 50°C hőmérsékletű RCM agarral lemezőntést végeztünk.

37°C-os, 24 órás anaerob körülmények közötti (anaerob doboz, anaerocult, anaerobic indicator) inkubálás után leszámoltuk a táptalajon nőtt telepek számát.

2.3.2. Hőpusztulás mértékének és sebességének megállapítása

A mikrobapopuláció pusztulási sebessége a sebességi együtthatóval jellemezhető. A kiindulási élőcsíra-szám tizedére csökkenési ideje (**D = 2,303/k.**) az az időtartam, ami ahhoz szükséges, hogy a mikroorganizmusok száma, az adott erősségű pusztító hatás mellett, egy nagyságrenddel csökkenjen. Tizedére csökkenési idő alatt a mindenkori élősejt-koncentráció 90%-a pusztul el. Kiszámítása az alábbi képlettel lehetséges:

2. Egyenlet

$$D_t = t / (\lg N_0 - \lg N_t),$$

ahol:

- N_t jelenti az adott pillanatban jelenlévő sejtkoncentrációt,
- N_0 a kezdeti sejtkoncentrációt,
- t a behatási időt (perc).

A hőpusztulási sebesség hőmérséklet függését a “z” értékkel tudjuk kifejezni. A “z” érték megadja azt a hőmérséklet növekedést, amely a hőpusztulás idejét tizedére csökkenti.

3. Egyenlet

$$z = (T'' - T') / (\log D_{T'} - \log D_{T''}),$$

ahol:

- T' az alacsonyabb alkalmazott hőmérséklet ($^{\circ}\text{C}$),
- T'' a magasabb alkalmazott hőmérséklet ($^{\circ}\text{C}$),
- $\log D_{T'}$ az alacsonyabb alkalmazott hőmérséklethez tartozó tizedelési idő logaritmus,
- $\log D_{T''}$ a magasabb hőmérséklethez tartozó tizedelési idő logaritmus.

Hőpusztulás megállapítására a hőpusztulási egyenletet alkalmaztuk:

4. Egyenlet

$$N_t = N_0 \times e^{-kt},$$

Ahol

- N_t jelenti az adott pillanatban jelenlévő sejtkoncentrációt,
- N_0 a kezdeti sejtkoncentrációt,
- t a behatási időt (secundum),
- k pedig a pusztulási sebességi együtthatót.

Az élősejtszám változást az adott hőmérsékleti effektus idejének függvényében a túlélési görbe adja meg:

5. Egyenlet

$$\lg N_t = \lg N_0 - (k \times t) / 2,303$$

2.3.3. F_0 értékek kiszámítása

Mivel a valóságos hőkezelési technológiák során a hőmérséklet az időben folyamatosan változik, az F_0 érték bevezetése szükséges. A hőkezelés minden esetben egy felmelegítési, egy hőtartási és egy lehűtési szakaszból áll. A kapott "z" értékek alapján 0,25, 1, 2, valamint 3,9 F_0 értékekre a *Clostridium* species spóráinak hőpusztulásához szükséges behatási időt a következő egyenlet alapján kalkuláltuk:

6. Egyenlet

$$F_0 = (t/60) \times 10^{(T-121_0C)/z},$$

ahol:

- F_0 jelenti a hőkezelési egyenértéket (perc),
- t behatási idő (secundumban),
- T a hőkezelési hőmérséklet ($^{\circ}C$),
- z a hőpusztulási sebesség hőmérséklet függésre jellemző z -értéket ($^{\circ}C$).

3. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

3.1. Hízott libamáj-előállító vonalról mikrobiológiai vizsgálatra vett mintákból *Clostridium* specierek jelenlétének kimutatása

3.1.1. TSC agar vizsgálat

Libaürülékből, kopasztógépről vett szennyből, valamint zsigerelés során kinyert ill. erezett májból TSC agaron kimutatható anaerob spórák baktériumok számát a **1. Táblázatban** foglaltuk össze.

1. Táblázat

Mintákból izolált anaerob spórák száma TSC-agaron

Minta megnevezése	<i>Clostridium</i> szám CFU/cm ³
Libaürülék	3,65x10 ¹
Kopasztógépről vett szenny	6,50x10 ¹
Zsigerelés során kinyert máj	10 ²
Erezett máj	10 ²
Libamáj-konzerv doboza	0

3.1.2. *Clostridium* fajok izolálása RC táptalaj segítségével

A hízott libamáj-előállítás során kijelölt kritikus szabályozási pontokról vett minták RC agaron vizsgált *Clostridium* spp. és *Cl. sordellii* spóraszámát a **2.Táblázatban** foglaltuk össze.

2. Táblázat

Clostridium spp., és *Cl. sordellii* spóraszámok vizsgált tételekben

Minta neve	<i>Clostridium</i> spóraszám (CFU/g)	<i>Cl. sordellii</i> spóraszám (CFU/g)
Liba faeces	$1,77 \cdot 10^3$	10^2
Libatoll	$1,53 \cdot 10^3$	$1,2 \cdot 10^1$
Zsigereléskor kinyert máj	$8,13 \cdot 10^1$	10^1
Erezett libamáj	$8,67 \cdot 10^2$	$2,1 \cdot 10^2$
Konzervdoboz	0	0

Az erezett máj *Clostridium spp.*, ill. *Cl. sordellii* spóraszámja egy nagyságrenddel magasabb volt, mint a zsigereléskor kinyert májé. Ennek oka a termék konzervüzembe szállításának, vagy az erezéshez használt késnek, asztalfelületnek, illetve a dolgozónak nem megfelelő higiénés színvonala és állapota lehet.

Az RC táptalajon jelentősen magasabb *Clostridium* számot kaptunk, mint az előzőekben alkalmazott TSC agaron. Ennek oka a TSC agar erős szelektivitása *Cl. perfringensre*.

3.1.3. *Clostridium sordellii* biokémiai vizsgálata

Az RC agaron képződött fehéres-áttetsző színű, az agar egész felületét belepő, „elfutott”, lapos, nyálkás telepet Columbia véres agarra oltottuk át, ritkító szélesztéssel. A 24 órás, anaerob körülmények között történt (T=37°C) inkubálás után a véres agaron szürkés-fényes, lapos, nyálkás, diffúz telepeket láttunk, melyek egymásba futottak. A baktérium β -hemolitikus aktivitását a telepek körüli szabályos szélű feltisztulás bizonyította.

Az izolált spórák baktérium mozgását már a telep diffúz jellege is mutatta, azonban a bakteriális csillók meglétét függőcepp készítmény mikroszkópikus vizsgálatával is ellenőriztük. A baktériumok rövid, lekerekített végű, élénken mozgó pálcikák voltak. Sok baktériumsejtnél a szubcentrálisan elhelyezkedő endospórák is láthatóak voltak.

A nitrát-redukáló-mozgásképesség agaron a baktérium az inkubációs idő letelte után diffúzan helyezkedett el, ami szintén a mozgásképességet bizonyítja. Az fNMOT táptalajhoz adott nitrát reagens hatására a táptalaj nem színeződött el, tehát a baktérium nem redukálta a nitrátokat.

A fenolvörös indikátort is tartalmazó LG félfolyékony agar színe a beoltás utáni 48. órában sem mutatott változást, állaga azonban folyékony lett, ami a táptalaj 30 perces, 4°C-on tartása után is megmaradt. Az izolált mikroorganizmus tehát nem bontja a laktózt, de a zselatint igen.

Cl. sordellii igazolása

Rapid ID 32 A testkittel végzet vizsgálat során a kapott eredmény „jónak” volt mondható. Az identifikációs százalék (id%) 97,8; a jellemzőségi index (T) pedig 0,54. Igaz ugyan, hogy ez utóbbi érték viszonylag alacsony, azonban a computer következő választása is *Cl. sordellii* lett volna, így tehát az eredményt elfogadtuk. Az ATB azonosító rendszerbe táplált adatok szerint az általunk izolált *Cl. sordellii* törzs 3 biokémiai tulajdonságban tér el a többi *Cl. sordellii* törzstől, míg utóbbiak 1%-a nem rendelkezik β -galaktozidáz, 22%-a pedig α -fukonodáz, ill. piroglutaminsav-arilamidáz enzimmel.

Elmondhatjuk tehát, hogy valóban *Cl. sordellii* törzset találtunk a nyers libamájokban.

Cl. perfringens igazolása

Az α -glükózidáz enzim jelenléte, valamint a raffinóz bontási képesség tekintetében a *Cl. perfringens* törzsek 75%-a, ill. 95%-a pozitív, míg az általunk izolált törzs a rapid ID 32 A testkittel végzett biokémiai vizsgálat alapján a fennmaradó 25 ill. 5% negatív reakciót adó törzs közül való. Elmondható, hogy ennek ellenére az azonosítás igen jó eredménnyel járt, mivel az identifikációs index 99,9% volt (T=0,65).

3.2. Hőtűrés-vizsgálatok

3.2.1. Izolált és azonosított *Clostridium* fajok spórafestése

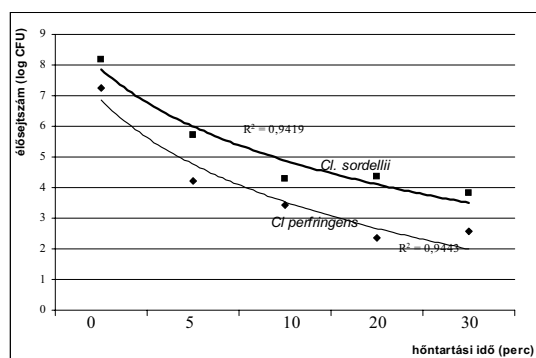
A *Cl. sordellii* baktériumspóráinak festése eredményeképpen zöld színű, szubcentrálisan elhelyezkedő, valamint a sejt lízise során kiszabadult szabad endospórák voltak láthatóak, míg *Cl. perfringens* esetében a spórák centrálisan helyezkedtek el.

A hőpusztulási vizsgálatokat tehát magas spóraszámú baktérium-tenyésztéssel végeztük.

3.2.2. *Cl. sordellii* és *Cl. perfringens* 95°C-on végzett hőtűrés vizsgálatának eredménye

A *Cl. sordelli* kiindulási élőszáma $1,571 \cdot 10^8$ CFU/ml volt, ami a hőkezelés 5. perce után három nagyságrendet csökkent ($5,125 \cdot 10^5$ CFU/ml). A következő 5 perc azonban már csak 1 nagyságrendnyi csökkenést eredményezett ($2,275 \cdot 10^4$ CFU/ml), ami a 20. hőtartási percben sem változott lényegesen ($1,857 \cdot 10^4$ CFU/ml). A hőkezelés végén, a 30. percben, is csak 10^3 nagyságrendig esett az élő sejtek száma ($6,727 \cdot 10^3$ CFU/ml).

A hőkezelés kezdetekor hasonló tendencia volt megfigyelhető a *Cl. perfringens* spórák számának csökkenésében is. A kezdeti $1,76 \cdot 10^7$ CFU/ml élősejtszám a hőkezelés első 5 perce után 3 nagyságrenddel csökkent ($1,65 \cdot 10^4$ CFU/ml), a második 5 perc letelte után azonban már csak 1 nagyságrendbeli ($2,60 \cdot 10^3$ CFU/ml) volt a csökkenés mértéke. Ez a csökkenő tendencia figyelhető meg a hőkezelés 20., illetve a 30. perce után is, ahol a túlélő sejtek száma mindkét esetben 10^2 CFU/ml nagyságrendű ($2,37 \cdot 10^2$ CFU/ml, ill. $3,66 \cdot 10^2$ CFU/ml) volt.



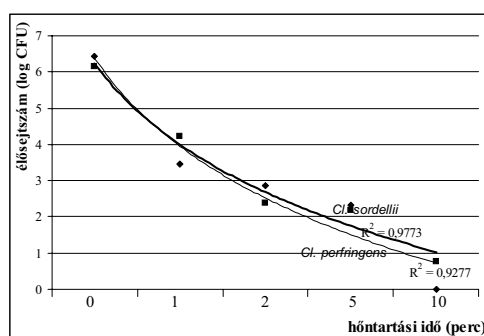
1. ábra. *Clostridium perfringens* és *Clostridium sordellii* hőpusztulási görbéje 95°C hőmérsékleten

A **1. ábra** mutatja, hogy a 20. és a 30. perc között a csíraszám a hőkezelés során nem változott jelentősen, ezzel szemben az első 5 perc után az élősejtek száma jelentős mértékben csökkent. Ezt a jelenséget a baktériumsejtek hirtelen hősokkjával, ill. a spórák hőadaptációjával magyarázhatjuk. *Cl. sordelli* 30 perces hőkezelés után is megmaradt $6,727 \cdot 10^3$ /ml élősejtszáma azt mutatja, hogy a jövőben e baktérium 95°C-on történő hőpusztulásának vizsgálatát hosszabb ideig kell végeznünk.

3.2.3. *Clostridium sordellii* és *Clostridium perfringens* hőpusztulása 105°C-on

Az olaj-víz elegyben fenntartott 105°C-os hőmérsékleten végzett hőkezelés során, a *Cl. sordellii* hőpusztulása hasonló tendenciát mutatott, mint a 95°C-on végzett vizsgálatok eredményei.

A kezdeti magas élősejtszám a hőkezelés első percében mindkét baktérium esetében három nagyságrendet csökkent. A hőkezelés második percében a *Cl. sordellii* spórák száma két, míg a *Cl. perfringens* spóráké csak egy nagyságrenddel csökken. Az 5. hőtartási percre mindkét baktérium élősejtszáma 10^2 CFU/ml nagyságrendű volt, ami a következő 5 percben a *Cl. sordellii* esetében nem változott, azonban *Cl. perfringens* spórák a hőkezelés 10. percében már nem voltak kimutathatóak.



2. ábra. *Clostridium perfringens* és *Clostridium sordellii* hőpusztulási görbéje 105°C hőmérsékleten

3.3. *Cl. sordellii* és *Cl. perfringens* számított D- és z-értékei

A nyers libamájból izolált *Cl. sordellii* 95°C-on mért hőpusztulásának tizedelési ideje tehát 6,86 perc, 105°C-on pedig 1,86 perc. A kapott tizedelési

időkből számított hőmérsékletfüggő hőpusztulási sebesség értéke pedig 17,63°C, ami magasnak mondható.

Ugyanezen egyenletek alapján a *Cl. perfringens* tizedére csökkenési ideje 95°C-on ($D_{95}^{\circ C}$) 6,407 perc, 105°C-on pedig 1,255 perc. A 95°C és 105°C hőmérsékletkülönbségre számított érték 14,12°C volt.

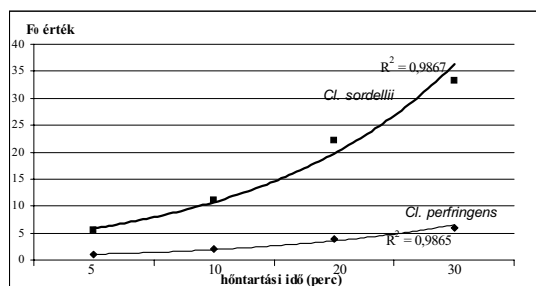
A fenti egyenletek alapján számított F_0 értékeket a 3. táblázatban foglaltuk össze.

3. táblázat

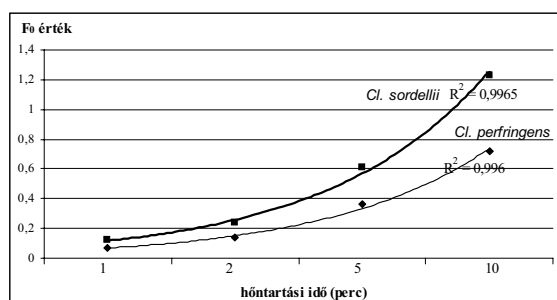
Cl. sordelli (*Cl.s.*) és *Cl. perfringens* (*Cl.p.*) 95°C és 105°C hőmérsékleten (T) és különböző hőntartási időken számított F_0 értékeinek összefoglalása

Megnevezés	Hőmérséklet (°C)	Hőntartási idő (perc)	F_0 érték
<i>Cl. perfringens</i>	95	5	0,99
		10	1,99
		20	3,99
		30	5,99
<i>Cl. sordellii</i>	95	5	5,53
		10	11,07
		20	22,15
		30	33,23
<i>Cl. perfringens</i>	105	1	0,07
		2	0,14
		5	0,36
		10	0,72
<i>Cl. sordellii</i>	105	1	0,12
		2	0,24
		5	0,61
		10	1,23

A libamájából készült konzervtermékek megfelelő hőkezeléséhez, a lehető legalacsonyabb F_0 érték alkalmazásához a konzervdoboz hővezető-képességének, valamint a hőkezeléshez használt berendezés felmelegedésének megismerése további vizsgálatokat igényel.



4. ábra. *Clostridium perfringens* és *Clostridium sordellii* hőpusztulási adataiból számított F_0 értékek 95°C-on



5. ábra. *Clostridium perfringens* és *Clostridium sordellii* hőpusztulási adataiból számított F_0 értékek 105°C-on

A *Cl. sordellii* 105°C hőmérsékleten vizsgált hőpusztulási adataiból számított igen nagy F_0 érték a vizsgálatra beállított magas spóraszámából ($1,571 \cdot 10^8$ CFU/ml) adódott. A nyers hízott libamájából izolált *Cl. sordellii* spóraszámja 10^1 , illetve $2,1 \cdot 10^2$ CFU/ml volt, mely a kapott vizsgálati értékek alapján nagy valószínűséggel már a 95°C-os hőkezelés során is az első 5 percben elpusztul.

4. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

- Megállapítottuk, hogy a zsigereleskor kinyert, valamint az erezett hízott libamáj TSC agaron kitenyésztett *Clostridium* élősejtszáma magasabb volt, mint a libatollból, ill. a faeces-ből kimutatott. A termék *Clostridium* baktériumokkal szennyezettsége adódhatott a zsigereles során megjelölt bontási hibákból, valamint az elégtelen személyi higiéniaból.
- A hízott libamáj-előállításban, valamint a máj tovább-feldolgozásában a kritikus szabályozási pontok számát csökkenteni, a termék minőségét - elsősorban mikrobiológiai minőségét – javítani lehetne a testek levegős előhűtésének megkerülésével. A jövőben kívánatos lenne a hízott libák ún. „melegen bontása”. Jól lehet, Magyarországon még nem alkalmazzák ezt a jellegű egyfázisú bontást, mégis a máj mikrobiális szennyezettségét, ezáltal a konzervek hőkezelésénél az alkalmazott F_0 értéket jelentősen csökkenteni lehetne.
- Megállapítottuk hogy a *Cl. sordellii* spórák esetében a hőntartási idő függvényében nagyságrendileg nem sokat változott sem 95°C -on, sem 105°C -on; így a baktérium elpusztításához magasabb hőmérsékletre, illetve hosszabb hőntartási időre van szükség, mint a *Cl. perfringens* spórák esetében. Ezen igen hőellenálló anaerob spóras baktériumok jelenléte a nyers libamájban veszélyezteti a konzervtermék mikrobiológiai és fiziko-kémiai minőségi biztonságát.
- A mikrobiológiai szempontból kifogástalanabb végtermék-előállítás céljából a libatömő telepeken is bevezettük a HACCP rendszert. A madarak tartásának és tömésének magasabb fokú higiéniájával a máj minősége javítható.

5. ÖSSZEFOGLALÁS

Vizsgálataink során az erezett májból vett mintákban magasabb volt a *Cl. sordellii* élősejtszáma, mint a zsigereles utáni mintákban, valamint a *Clostridium* fajok élősejtszáma is egy nagyságrenddel nagyobb volt, mint a libafaeces-ből és tollból kimutatott érték. Ezen adatokból arra következtethetünk, hogy a nyers máj kezelése higiéniailag nem volt megfelelő. A máj a kivétele, tárolása, szállítása során kontaminálódhatott úgy eszköztől, mint embertől.

A fertőződés továbbvitelében igen nagy szerepet játszanak a baromfiüzem dolgozói. A kontaminálódás okának pontos feltárásában, vizsgálatában segítséget nyújt a kritikus szabályozási pontok kijelölése. A személyi higiénés rendszabályok betartásának elmulasztásával keresztfertőződés is kialakulhat, mivel e baktériumok spórái igen ellenállóak. Az alapvető higiéniai szabályok közé tartozik pl. a megfelelő védőfelszerelés használata, a rendszeres kézmosás, fertőtlenítés, a dolgozók időszakos orvosi vizsgálata, az étkezők, öltözők helyes elrendezése.

Eredményeink alapján a főbb kijelentéseket tehetjük:

A kritikus szabályozási pontokkal kapcsolatosan:

- A hízott-libamáj előállításának élelmiszeripari folyamatában mikrobiológiai szempontból 11 fő kritikus szabályozási pontot jelöltünk meg, melyek a következők: kábítás, forrázás, testmosás, állategészségügyi vizsgálat, nyelőcső eltávolítása, levegős előhűtés, kézi darabolás, végbélgyűrű körbevágása, zsigereles, mérlegelés.
- A szabályozási pontok szakszerű felügyelete, folyamatos monitorozása lehetővé teszi a megfelelő minőségű termék előállítását.

- A levegős előhűtés folyamatának kihagyásával, a „melegen bontás” bevezetésével mikrobiológiai szempontból aggálytalanabb minőségű májat lehetne kinyerni, mellyel a konzerv-előállításban az alacsonyabb F_0 érték elérhető lenne.

Mikrobiológiai vizsgálatokkal kapcsolatban:

- A vágóvonalon kijelölt, mikrobiológiai szempontból kritikus szabályozási pontokon vett minták közül a nyers májak *Clostridium* spóra száma jóllehet nem volt jelentős, mégis felülmúlta a liba ürülékből, illetve tollból izolált *Clostridium* spóraszámot. Ezen eredmények a termék valamely okból bekövetkezett útófertőződésére utalnak. A kontamináció létrejöhetett a nem megfelelő:
 - személyi higiéné,
 - eszközfertőtlenítés során, valamint a
 - levegővel való szennyeződés,
 - mosóvíz fertőződése miatt.
- A nyers máj átszállítása a konzervüzembe hűtővel felszerelt gépjármű segítségével történik. A hűtőkocsiban a máj szennyeződhet a(z):
 - hűtőszekrény elégtelen fertőtlenítése,
 - hűtésre használt jég nem megfelelő mikrobiológiai állapota,
 - rossz személyi higiénia miatt.
- A nyers libamájából izolált *C. perfringens* és *C. sordellii* 95°C-on és 105°C-on végzett hőpusztulási vizsgálatát során megtudtuk, hogy a *C. sordellii* spórák igen hőellenállóak, így azok hőpusztulási

vizsgálatát a jövőben hosszabb időtartamon keresztül kell vizsgálnunk, jóllehet az élelmiszeriparban a magasabb hőmérsékleten, de rövidebb ideig tartó hőkezelést részesítik előnyben, a termék fizikai és kémiai minőségének megóvása érdekében.

- A *C. sordellii* hőpusztulási vizsgálata során kapott eredmények alapján számított F_0 értékek igen riasztó mértékűek, azonban meg kell jegyeznünk, hogy kísérleteinket igen magas kezdeti spóraszámokkal állítottuk be. A HACCP rendszer betartásával a nyers májból kimutatható *Clostridium* spórák száma nem érheti el ezt a 10^8 nagyságrendű mértéket (ahogy a mi vizsgálatainkban sem érte el), így a konzervkészítésnél sem kell az általunk megjelölt F_0 értéket alkalmazni.

Konzervtermékek, melyek csíráatlanítása során 4-5 F_0 értéket alkalmaznak, ahogy Magyarországon is, azonban Európa nyugati piacain nem elfogadottak, tehát a jövőben a hőkezeléshez használt berendezés felmelegedésének megismerése, a konzervdoboz hővezetőképességének megismerése további feladatokat tesz elénk.

Az állattartásban, lúdhízalásban a HACCP rendszer bevezetését megkezdjük, így a teljes hízott libamáj-előállítás folyamatára a minőségbiztosítási rendszert kiépítjük.

6. ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁHOZ KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK

6.1. Publikációk idegen nyelven

Turcsán J., Varga, L., Turcsán Zs., Szigeti J. – Farkas L., 2001: *Occurrence of Anaerobic Bacterial Spores, Clostridial and Clostridium perfringens Spores in Raw Goose Livers from a Poultry-Processing Plant in Hungary*. Journal of Food Protection 64 (8), 1252-1254

Turcsán Zs., Szigeti J., Varga L., Farkas L., Birkás E. – **Turcsán J.**, 2001: *The effects of electrical and controlled atmosphere stunning methods on meat and liver quality of geese*. Poultry Science, 80 (11), 1647-1651

Turcsán Zs., Varga L., Szigeti J., **Turcsán J.**, Csurák I. – Szalai M., 2003: *Effect of electrical stunning frequency-voltage combinations on the presence of engorged blood vessels in goose liver*. Poultry Science, 82 (6), 1816-1819. (2002)

6.2. Magyar nyelvű publikációk

Turcsán J. (2000): *Nyers libamájból izolált Clostridium perfringens hőűrésének vizsgálata.* Diplomamunka

Turcsán Zs., Szigeti J., Tenk A., Birkás E. - **Turcsán J.**, 2002: *A magyar hizott libamáj ágazat helyzete és fejlesztésének lehetőségei a legújabb hazai és nemzetközi kutatási eredmények tükrében.* Állattenyésztés és Takarmányozás, 51. (2.) 157-464.

Kumulatív impakt faktor: 4.29