

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

POSGAY MIKLÓS MARCEL

MOSONMAGYARÓVÁR

2024

**SZÉCHENYI ISTVÁN EGYETEM
ALBERT KÁZMÉR MOSONMAGYARÓVÁRI KAR
ÉLELMISZERTUDOMÁNYI TANSZÉK**

Wittmann Antal Növény-, Állat- és Élelmiszer-tudományi
Multidiszciplináris Doktori Iskola
Pulay Gábor Élelmiszertudományi Doktori Program

Doktori Iskolavezető:
Prof. Dr. Varga László, DSc
egyetemi tanár

Programvezető:
Prof. Dr. Varga László, DSc
egyetemi tanár

Témavezetők:
Hanczné Dr. Lakatos Erika, PhD **Dr. Kapcsándi Viktória, PhD**
egyetemi docens egyetemi docens

**EGYES GYÓGYNÖVÉNYFÉLESEGEK HÚSIPARI
FELHASZNÁLÁSÁNAK LEHETŐSÉGEI**

Készítette:
Posgay Miklós

Mosonmagyaróvár
2024

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITÚZÉS

A globalizációnak, valamint az aktív élelmiszer-kereskedelemnek köszönhetően a baktériumok, a gombák, a vírusok és a paraziták által okozott, élelmiszer eredetű betegségek világszerte az egyik vezető egészségügyi problémává váltak. Az élelmiszerekben előforduló mikroorganizmusok évente mintegy 600 millió élelmiszer-fertőzést és 450 000 halálesetet okoznak. Az élelmiszer-biztonsági veszélyekkel összefüggő mikroorganizmusok többnyire önlimitáló betegségeket idéznek elő, melynek során hányingerrel, hányással, hasi görcsökkel, hasmenéssel és fejfájással lehet számolni.

A hús az egyik legromlékonyabb élelmiszernek számít, köszönhetően a termékben végbemenő mikrobiális és oxidatív romlási folyamatoknak. A nyers húsokban leggyakrabban előforduló mikroorganizmusok közé a *Salmonella spp.*, a *Campylobacter spp.*, az *Escherichia coli* (*E. coli*), a *Penicillium*, az *Aspergillus*, a *Fusarium* és az *Alternaria* fajok tartoznak, melyek az emberek számára mérgező másodlagos anyagcseretermékeket termelhetnek.

Az élelmiszer-eredetű kórokozókkal való szennyeződés kockázatának csökkentése érdekében fejlett feldolgozási és tartósítási technikákat dolgoztak ki az élelmiszeriparban. A 20. század közepétől mesterséges tartósítószeret alkalmaznak az élelmiszer-feldolgozás során azonban a fogyasztók feldolgozott élelmiszerekkel kapcsolatos megítélése általánosságban negatívvá vált, az adalékanyagoktól mentes alternatívákat részesítik előnyben szintetikus anyagokkal szemben.

A célkitűzéseinket az alábbiakban fogalmaztuk meg:

- Különböző gyógy-, és fűszernövények, illetve azok kivonatainak, és hatóanyagainak lehetséges húspari felhasználásainak vizsgálata.
- Különböző gyógy- és fűszernövények (kakukkfű, zsálya, oregánó, rozmaring, bazsalikom), illetve azok illóolajainak nyers süttőkoltás mikrobiológiájára gyakorolt hatásának vizsgálata.
- A vizsgálatokba bevont illóolajok minimális gátlási koncentrációjának (MIC) meghatározása, 2-2 illóolaj kiválasztása baktériumonként.
- Patogén baktériumokkal befertőzött süttőkoltás, valamint sertésmájából készült pástétom illóolajokkal történő kiegészítése, MIC mennyiségben, majd rövid távú hatásuknak vizsgálata a befertőzésre használt baktériumokra.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

A kutatások során és azok eredményeinek kiértékelése függvényében az alábbi kísérletek beállítására, elvégzésére, valamint elemzésére került sor.

A mérések megtervezésekor elsőként az előkísérletek elvégzését tűztük ki célul, amelyek keretében a vizsgálandó kolbászmasszát magunk kevertük be, kereskedelmi forgalomból származó húsalapanyagból (sertéscomb, sertés zsírszalonna), illetve az ízesítéshez használt alapfűszerekből (fekete bors, fehér bors, kömény, piros paprika por, szerecsendió, só). Az első vizsgálatához választott

szárított zsálya (*S. officinalis* L.) kiegészítés az Élelmiszertudományi Tanszék saját gyógynövénykertjéből származott. A zsályát 0,5%, 1%, 1,5%, illetve 2%-ban adagoltuk, míg a kontroll termék nem tartalmazott gyógynövényt. A zsályából alkoholos extrakcióval kivonatot is készítettünk, melynek antimikrobás hatását agardiffúziós lyuktesztrel is megvizsgáltuk.

Az előkísérlet után levont konklúzió alapján a kísérletet előre bekevert, kész kolbászmasszával folytattuk, mely jobban modellezi az ipari körülményeket, mint a steril laboratóriumban előállított termék. A választott gyógynövények az orvosi zsálya, a közönséges kakukkfű, a bazsalikom, a közönséges szurokfű és a rozmaring voltak. A gyógynövényeket kereskedelmi forgalomból szereztük be. A szárított gyógynövények adagolt koncentrációjának meghatározása az előkísérletben már ismertett koncentrációk alapján történt.

A mérések harmadik szakaszában az előbb felsorolt gyógynövények illóolajait adagoltuk a kolbászmintákhoz, a szárított gyógynövények adagolásával megegyező koncentrációkban.

Végeztünk kísérletet arra vonatkozóan is, hogy milyen hatása lenne a hozzáadott illóolajoknak rövidtávon a sejtszámra. Ennek vizsgálatához a termékeket mesterséges úton ismert nagyságrendű patogén baktériumokkal fertőztük be, majd illóolajokat adagoltunk hozzájuk. Az egyik termék a már eddig is használt kolbászmassza volt, míg a másik a májpestétom. Az illóolajoknak ezen kísérletek esetében meghatároztuk a minimális gátlási koncentrációkat, majd ezek közül kiválasztottuk a legkisebb koncentrációkat és adagoltuk a termékekhez.

2.1. Előkísérlet során felhasznált alap- és segédanyagok, vegyszerek, alkalmazott eszközök és a kolbász gyártástechnológiája

2.1.1. Felhasznált alap- és segédanyagok

Az előkísérlethez felhasznált hús alapanyagot (5000 g), valamint a későbbi vizsgálatokhoz használt kész kolbászmasszát (6500 g) és belsőséget (900 g) egy közeli húsüzemből vásároltuk, a felhasznált fűszerek kereskedelmi forgalomból származtak.

Az előkísérlet során használt zsálya a Széchenyi István Egyetem, Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar, Élelmiszertudományi Tanszék mögött kialakított parcelláról származott.

A gyártások során felhasznált természetes sertés vékonybél szintén kereskedelmi forgalomból származott.

A termékek vákuumsomagolására használt vákuumzacskókat a Gasztronauta Kft. győri telephelyén vásároltuk.

2.1.2.. Kolbász gyártástechnológiája

A nyers, darálón megfelelő szemcseméretűre ledarált sertéshúshoz és a hozzákevert darált zsírszalonnához az előre kidolgozott recept alapján (4. táblázat) hozzáadtuk a fűszereket: édes, darált pirospaprika, só, darált feketebors, darált fehérbors, darált kömény, darált szerecsendió, darált fokhagyma. Kutterben a megfelelően egyöntetű állapot, valamint a 4–6 mm-s szemcsenagyság eléréséig kevertük, majd 1–1 kilogrammonként szétosztottuk, ezután hozzáadtuk mindegyikhez megfelelő mennyiségben a szárított, aprított gyógynövényt, vagy a későbbi kísérletek során az illóolajokat. A kontroll termék nem tartalmazott hozzáadott gyógynövényt, vagy

illóolajat sem. A masszát természetes sertés vékonybélbe. töltöttük, majd vákuumsomagoltuk 150x200 mm-es vákuumtasakokba.

2.1.3. Kolbásminták mikrobiológiai vizsgálatának menete

A terméket a 0., 7., 14. és 21. napon vizsgáltuk. Egy vákuumsomagolt, nyers kolbász nagyjából 14–21 napig őrzi meg a fogyaszthatósági idejét, a mikrobiológiai aktivitás, valamint a még aktív enzimeknek köszönhetően.

A termékek vizsgálatának alapjául a 4/1998. (XI. 11.) EüM rendelet szolgált, mely rendelkezik az élelmiszerekben előforduló mikrobiológiai szennyeződések megengedhető mértékéről.

Staphylococcus aureus vizsgálatát Baird-Parker, tojássárga-tellurit emulzióval kiegészített táptalajon végeztük 37 °C-on, 24–48 órán át. Megerősítése Staphylect plus teszttel történt.

Az élesztő és penész vizsgálatát Élesztő Glükóz Klóramfenikol agaron végeztük, 25 °C-on, melyet 120 óra után értékeltük ki az élesztő és penész telepek külön történő leszámolásával.

Clostridium perfringens esetében Triptóz Szulfít Cikloszerin agart használtunk, 37 °C-on, 24 órán át, majd DRCM táplevessel erősítettük meg 37 °C-on történő 44–48 órás inkubálás után.

Kóliform és *Escherichia coli* vizsgálatát ChromoCult Coliform agaron végeztük, 37 °C-on, 48 óra után értékeltük ki. Az *E. coli* megerősítése Kovács-féle indol reagenssel történt.

Az összes telepképző egység szám vizsgálata Plate Count agarral történt, a lemezeket 30 °C-on, 72 óra után értékeltük ki.

A *Salmonella*-t elsőként pufferolt peptonvízben dúsítottuk 37 °C-on, 24 óra után szelektív Rappaport-Vassiliadis táplevesbe pipettáztunk

0,1 mL-t, inkubáltuk 24 órán át, 41 °C-on. Az RV mellett Müller-Kauffmann szelektív táplevesbe 1 mL-t pipettáztunk, majd inkubáltuk 24 órát, 37 °C-on. Végül Xilóz Lizin Dezoxikolat és Brillantzöld-fenolvörös-laktóz-szacharóz agaron szelektíven tenyésztettük 24 órán át, 37 °C-on. A megerősítés *Salmonella* savókkal történt.

2.1.4. A sütőkolbászhoz használt zsályából történő kivonat készítése

Az előkísérletek során Durling et al. (2007) módszerét használtuk, amelynek lényege, hogy az aprított zsályát, előzőleg 24 órán át 35°C-on, szárítószekrényben, tömegállandóságig történő szárítása után 81 v/v%-os etanol:víz elegyében 6:1 kivonószer:mintatömeg arányban, 4 órán át, 40 °C-os rázóvízfürdőben kell extrahálni. A szűrés után 70 °C-on tömegállandóságig kell bepárolni az extraktumot, hogy az alkohol elillanjon. A kivonatot +4 °C-os hűtőben tároltuk a gátlóhatásvizsgálat elvégzéséig.

2.1.5. Agardiffúziós lyukteszt

A vizsgálandó anyagból oldatot készítünk, majd ezt az oldatot rápipettázzuk a Petri-csészében lévő előre dugófúró csővel fúrt lyukakba. A 10 milliméteres lyukakba körülbelül 20 mikroliter oldat fér, az inkubálási idő után, amennyiben fellép gátló hatás, a lyukak körül nem tapasztalható baktériumaktivitás. A pipettázott oldat az agarlemezbe diffundál, így fejt ki hatását.

A zsálya kivonatát *Salmonella*, *E. coli*, *St. aureus* és *Enterococcus faecium* baktériumokkal vizsgáltuk, Tripton Szója Agaron 24 óra után, 37°C-on. Az inkubálási idő letelte után megmértük a kialakult gátlási zónákat.

2.2. Szárított gyógynövényekkel készült kolbászok alap- és segédanyagai, vegyszerek, eszközök

2.2.1. Felhasznált alap- és segédanyagok

A további kísérletekhez a sütőkolbászmasszát előre bekeverve vásároltuk, mivel az ipari körülmények között előforduló mikroflórát szeretnénk volna a vizsgálatok alapjául venni.

A felhasznált gyógynövények is kereskedelmi forgalomból származtak, szintén az ipari körülmények modellezése végett.

2.2.2. Kolbászminták mikrobiológiai vizsgálatának menete

A 2.1.4. sorszámú fejezetben ismertetett módszerek alapján vizsgáltuk a választott kakukkfűvel, orvosi zsályával, rozmaringgal, bazsalikommal, oregánóval 0,5%, 1%, 1,5% és 2%-ban kiegészített kolbászmintákat. A kontroll termék nem tartalmazott szárított gyógynövényt.

2.3. Illóolajjal kiegészített kolbászok alap- és segédanyagai, vegyszerek, eszközök

2.3.1. Felhasznált alap- és segédanyagok

A további kísérletekhez a sütőkolbászmasszát előre bekeverve vásároltuk, mivel az ipari körülmények között előforduló mikroflórát szeretnénk volna a vizsgálatok alapjául venni.

A kísérletekhez használt illóolajokat (*Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare* L., *Ocimum basilicum* L., *Salvia officinalis* L.) az NHR Organic Oils Ltd.-től (Brighton, Egyesült Királyság) és NSH Organics Ltd.-től (Budapest, Hungary) szereztük be.

2.3.2. Kolbászminták mikrobiológiai vizsgálatának menete

A 2.1.3. sorszámú fejezetben ismertetett módszerek alapján vizsgáltuk a választott kakukkfű, orvosi zsálya, rozmaring, bazsalikom, oregánó illóolajával 0,5%, 1%, 1,5% és 2%-ban kiegészített kolbászmintákat. A kontroll minta nem tartalmazott illóolajat.

2.4. Befertőzött, illóolajokkal kiegészített kolbászok alap- és segédanyagai, vegyszerei, eszközei, illetve a mikrobiológiai vizsgálatok leírásai

2.4.1. Felhasznált alap- és segédanyagok

A további kísérletekhez a sütőkolbászmasszát előre bekeverve vásároltuk, mivel az ipari körülmények között előforduló mikroflórát szerettük volna a vizsgálatok alapjául venni.

A felhasznált gyógynövények is kereskedelmi forgalomból származtak, szintén az ipari körülmények modellezése végett.

2.4.2. Vizsgálatokhoz felhasznált baktériumtörzsek, valamint az illóolajok minimális gátlási koncentrációjának (MIC) meghatározása

A vizsgálathoz az Élelmiszertudományi Tanszék gyűjteményében lévő *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella enterica subspecies enterica serovar* Typhimurium ATCC 17028 és *Escherichia coli* ATCC 25922 baktériumokat használtuk.

A vizsgálathoz tiszta tenyészeteket használtunk, melyeket a befertőzés előtt 16–24 órával inokuláltuk TSA lemezre, hogy friss tenyésztellel fertőzzük be a mintákat.

Az illóolajok MIC-értékét (Minimal Inhibitory Concentration) a Klinikai és Laboratóriumi Szabványügyi Intézet iránymutatásai által ajánlott makrodilúciós módszerrel határoztuk meg. Az illóolajokat 5%-

os dimetil-szulfoxid-oldatban oldottuk fel, amely 0,1% TWEEN-80 oldatot tartalmazott (Cazella et al., 2019), majd felező hígítással Mueller-Hinton táplevesben pipettáztuk, hogy 0,39-200 µL/mL közötti végső koncentrációkat kapjunk (Perdana et al., 2021). A *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella enterica enterica subspecies enterica serovar* Typhimurium ATCC 17028 és *Escherichia coli* ATCC 25922 baktériumszuszpenziókat - melyek sejt számát McFarland denzitométerrel állítottuk be 5×10^5 CFU/mL értékre - adtunk a csövekbe és összekevertük (6. ábra). Az inkubációt követően (37 °C-on 16 órán át) 100 µL rezazurin oldatot (0,01%) (Germed, Német Demokratikus Köztársaság) adagoltunk minden egyes csőbe és további 1 órán át inkubáltuk 37 °C-on. A MIC-et az illóolaj azon legalacsonyabb koncentrációjaként határoztuk meg.

2.4.3. A befertőzött kolbászminták mikrobiológiai vizsgálata

A mikrobiológiai vizsgálathoz szükséges mintákat a termékek elkészülését követően közvetlenül (0. óra), majd 16, 24, 48 és 72 óra elteltével vettük. A termékek általános mikrobiológiai állapotát is felmértük (4/1998 EüM rendelet alapján), majd az eredmények kiértékelése után végeztük el az befertőzéses vizsgálatokat.

A kontrolltermékeket csak illóolajat tartalmaztak, baktériumszuszpenziót nem adtunk hozzájuk. A mintákból steril szikével 10 g-ot vettünk, majd ezekhez 90 mL steril sóoldatot (0,85%) mértünk és homogenizáltuk Stomacher 400 Circulator rázókeverő segítségével. A minták sorozatosan 10^{-6} -ig hígítottuk és 0,1 mL-t pipettáztunk a TSA táptalaj felületére. Steril, egyszer használatos szélesztőbottal a táptalaj felszínén elszélesztettük a mintát, majd az

inkubációt követően (37 ± 2 °C-on 24 órán keresztül) 10–300 telepeket tartalmazó lemezeket számoltunk meg.

2.5. Befertőzött, illóolajokkal kiegészített májpástétomok alap- és segédanyagai, vegyszerei, eszközei, illetve a mikrobiológiai vizsgálatok leírásai

2.5.1. Májpástétom gyártástechnológiája

Májpástétom előállítása esetén az alapanyagokat először hőkezelní szükséges. Hőkezelés során a máj maghőmérséklete 81°C felett volt 60 perces hõntartás mellett. A hőkezelésre részben azért van szükség, hogy a termék későbbi főzésekor fellépő főzési veszteséget csökkentsük. Továbbá a terméket befertőztük, így az illóolajok hatását a hozzáadott baktériumokra, feltehetően steril termékben tudtuk vizsgálni. A késztermék mikrobiológiai állapotát ellenőriztük, mielőtt befertőztük volna őket.

A főtt alapanyagokat kutterben aprítottuk, majd kollagén műbélbe töltöttük, majd 81°C-os maghőre főztük, 60 perces hõntartással. A hőkezelés után jeges vízben hűtöttük le 6 °C alá. A befertőzés és a letoltások elvégzéséig a termékeket hűtőben, 4 °C-on tároltuk.

A termék nem tartalmazott semmilyen hozzáadott adalékanyagot, vagy fűszert, mivel ezek a befertőzés során alkalmazott baktériumokat feltehetően gátolták volna.

2.5.2. Májpástétomok befertőzése, illetve mikrobiológiai vizsgálatának menete

A kontroll pástétomokat a 4/1998-as Egészségügyi Minisztérium rendelete alapján *Staphylococcus aureus*, *Clotridium perfringens*,

Enterococcus faecalis, *Salmonella* spp, *Escherichia coli*, kóliformok, valamint telepképző egység számra is vizsgáltuk.

A baktérium szuszpenziók készítésekor McFarland készülékkel (Grant Instruments Ltd., Cambridge, Egyesült Királyság) állítottuk be a sejtszámot 0,5-ös értékre, majd ezt hígítottuk és adtuk a termékhez, úgy, hogy a termék minden esetben 10^5 TKE/g mennyiségű baktériumsejtet tartalmazzon. A szuszpenziók steril vízből (121 °C, 15 perc) készültek, kizárólag a hozzáadott baktériumokat tartalmazzák. A szuszpenziókat ellenőrzésképpen kioltottuk lemezöntéses módszerrel Mueller-Hinton agarra, majd 24 óra múlva leszámoltuk az értékelésbe bevonzható lemezeket.

Az előre kimért pástétomokhoz először az előre meghatározott illóolaj mennyiségeket pipettáztuk, majd egyneműsítettük. A megfelelő egyöntetű elkeverés után adtuk hozzá a baktériumszuszpenziókat a májpestétommintákhoz, 75 g mintához 1 mL szuszpenziót, ezáltal értük el a 10^5 TKE/g kiindulási sejtszámot.

2.6. Az eredmények statisztikai kiértékelése

A vizsgálatok eredményeinek statisztikai kiértékeléséhez az SPSS statisztikai programcsomag 27-es verzióját használtuk (IBM, New York, Amerikai Egyesült Államok). Az eredményei ábrázolásához a Microsoft Office Excel 2019 programot (Microsoft Corporation, Redmond, Amerikai Egyesült Államok) használtuk.

A méréseket három párhuzamosban végeztük. A kétmintás t-próba szignifikancia szintje 0,05 volt.

A vizsgálatok során kapott eredmények átlag \pm szórás formában adtuk meg.

3. EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

Az **előkísérlet** során az *E. coli*, a kóliformok és az összes telepkepző egység szám vizsgálatakor is a 14. naptól csökkent a sejtszám a termékben, viszont a legkisebb sejtszámot eredményező koncentrációk eltérők voltak (*E. coli* esetén az 1,5%, a kóliform esetén a 0,5%, míg az összes telepkepző egység esetén az 1%). *Salmonella* esetén minden minta a 14. napig pozitív volt, elmondható, hogy nem volt hatása az adagolt szárított zsályának. Az élesztőre nem volt hatással, egyik esetben sem. A penészszámok a kontroll minta esetén is csökkenést mutatott, itt is elmondható, hogy az adagolt szárított zsálya nem volt hatással a sejtszámra. Az előkísérlet elvégzése után döntöttünk az ipari körülmények közül származó kolbászmassza, illetve a bolti forgalomban is megvásárolható gyógy- és fűszernövények mellett, mivel ezek jobban modellezik az ipari körülmények között előforduló mikroflórát.

Az **ipari körülmények közül származó, szárított zsályával kiegészített kolbászminták** esetén az *E. coli* száma a kísérlet végig nőtt a sejtszám, a kontroll termékénél tapasztaltuk a legalacsonyabb sejtszámot. A kóliformok száma már a 7. mintavételi napon is csökkent a kiinduláshoz képest, a 14. napra a 2%-os mintában volt a legkisebb, továbbá a 2%-os mintában csökkent a legnagyobb mértékben. Összes telepkepző egység szám esetén a 14. naptól alakult ki csökkenés a sejtszámban, a 2%-os mintában volt a legkisebb a sejtszám. *Salmonella* a mintákban csak a 7. napig volt kimutatható.

Szárított oregánó adagolásakor a mintákban a *Cl. perfringens* száma a 7. naptól csökkent, a legkisebb sejtszámot eredményező

koncentrációk minden mintavétel napján változtak (7. napon: 1%; 14. napon: 1,5%; 21. napon: 0,5%). Kóliform esetén hasonlóan a 7. naptól csökkent a sejtszám, a legkisebb sejtszámok mintavételi naponként változtak (7. nap: 1,5%; 14. nap: kontroll; 21. nap: 1,5%). Élesztő esetén a 14. naptól csökkent a sejtszám, a következő 21. napi leoltáskor is az 1%-os mintában volt a legkisebb a sejtszám. Összes telepkepző egység szám esetén a 14. napig folyamatosan nőtt a sejtszám, az 1,5%-os minta esetén volt a legkisebb a sejtszám.

Szárított kakukkfű esetén a *Cl. perfringens* mennyiségében a gyógynövény hatására a 7. napra kismértékű csökkenést tapasztaltunk, nagyobb mértékűt a 21. napra. Az 1%-os minta esetén találtuk a legkisebb sejtszámot. Kóliform vizsgálat során a 7. napra már csökkenést tapasztaltunk minden esetben, a 2%-os szárított kakukkfűvet tartalmazó mintában volt a legkisebb a sejtszám a vizsgálat végéig. Élesztő vizsgálatkor a 7. naptól már csökkentek a koncentrációk, melyek a legkisebb sejtszámokat eredményezték minden leoltás alkalmával változtak, a 21. napra a 2%-os mintában volt a legkisebb a sejtszám. Összes telepkepző egység vizsgálatkor a 7. napig nőtt, majd a 14. napra csökkent a sejtszám, míg a 21. napra ismét nőtt, ekkorra a kontroll mintában volt a legkisebb a sejtszám. *St. aureus* csak az első leoltáskor volt a mintákban, a további leoltások egyikében sem mutattuk ki. A *Salmonella* a 0,5%-os minta esetén pozitív volt a 14. napon, a többi minta közül egy sem.

Szárított rozmaryng adagolásakor *Cl. perfringens* száma a 14. naptól csökkent, ekkor a sejtszám a 2%-os minta esetén, a 21. napon a 0,5%-os minta esetén volt a legkisebb. Kóliform vizsgálatkor a 7.

naptól csökkenést tapasztaltunk a sejtszámban, a 7. és 14. napon a 2%-os, míg a 21. napon az 1% mintákban volt a legkisebb a sejtszám. Élesztő esetén a sejtszám fokozatosan nőtt, a 7. napon az 1%-os, a 14. napon a 2%-os, míg a 21. napon a kontroll termékek voltak a legkisebb sejtszámúak. *St. aureus* e gyógnövényt tartalmazó minták esetében is csak az első leoltáskor mutattunk ki. A *Salmonella* vizsgálat a 14. napra csak a kontroll és az 1%-os mintában mutatott pozitív eredményt.

A szárított bazsalikomot tartalmazó mintákban a 7. naptól csökkent a *Cl. perfringens* sejtszám, a legkisebb sejtszámokért felelős koncentrációk leoltásonként változtak (7. nap: 1,5%; 14. nap: 1%). A 21. napon nem találtunk tipikus telepeket. Kóliform esetén a 7. naptól a sejtszámokban csökkenést tapasztaltunk, a 21. napig a 0,5%-os kiegészített minta rendelkezett a legkisebb sejtszámmal. Élesztő kimutatásakor a csökkenést szintén a 7. naptól figyeltük meg, a legkisebb sejtszámot az 1%-os, a 14. napos a 2%-os, míg a 21. napon ismét az 1%-os koncentráció eredményezte. Az összes telepkepző egység esetén a sejtszámok folyamatosan nőttek, az 1%-os mintában nőtt a legtöbbet, a 14. naptól a 2%-os minta esetén tapasztaltuk a legkisebb sejtszámot. Az előző vizsgálatokhoz hasonlóan ez esetben is csak az első leoltáskor volt *St. aureus* kimutatható a mintákban. Az 1%, 1,5% és 2%-os mintákban *Salmonella* csak a 7. napig volt kimutatható, a 14. napon a kontroll és a 0,5%-os minta még tartalmazott.

Szárított gyógnövények adagolásakor bizonyos esetekben volt szignifikáns eredménye a magasabb koncentrációnak, azonban ez a látható eredmény sem nagymértékű.

A szárított gyógynövények után **azok illóolajainak adagolása mellett vizsgáltuk a mikrobiológiai körülményeket.** A zsálya illóolajával kiegészített minták esetén már a 7. naptól csökkenést tapasztaltunk a *Cl. perfringens* számban, a 2%-os koncentráció a 14. napig volt a legkisebb sejtszámú a minták közül. A 21. napon nem találtunk tipikus telepeket a lemezeken. Kóliform esetén a sejtszám a 7. naptól csökkent minden mintában, a 14. naptól a 2%-os mintában volt a legkisebb a koncentráció. Élesztő esetén a leoltási napok előrehaladtával nőtt a sejtszám az illóolajjal kiegészített mintákban, míg a kontroll mintában a 7. naptól kismértékben csökkent. A 21. napon a 0,5%-os mintában volt a legnagyobb a sejtszám. Penész kimutatásakor a 14. napra kismértékben csökkentek a sejtszámok, míg a 21. napon már nem találtuk tipikus penésztelepeket a mintákban. Összes telepképző egység szám esetén a sejtszámok, minden mintában fokozatosan emelkedtek, de elmondható, hogy sok esetben volt szignifikáns különbség a minták között. *St. aureus* és *Salmonella* csak az első leoltáskor volt kimutatható a mintákból.

Oregánó illóolajának adagolásakor a *Cl. perfringens* sejtszámok a 7. napa csökkentek, a 2%-os minta rendelkezett a legkisebb sejtszámmal a 7. és 14. napon, míg a 21. napon nem mutattunk ki tipikus telepeket. Kóliform vizsgálatokkor a 7. naptól csökkentek a sejtszámok, a 2%-os mintában volt a legkisebb, a 21. napon nem találtunk tipikus kóliform telepeket a 2%-os mintához tartozó lemezeken, a többi mintához tartozó lemezeken igen. Összcsíra esetében a sejtszámok minden mintában nőttek a 14. napig, majd a 21. napon csökkentek. A 7. naptól a 2%-os mintában volt a legkisebb a

sejtszám, a többi mintához viszonyítva. *St. aureus* esetén a 7. napra csak a kontroll mintában találtunk tipikus telepeket. *Salmonella*-t a 0,5%-os mintában a 7. napon, a kontroll mintában a 14. napon, a többi minta esetén az első leoltáskor mutattunk ki.

Kakukkfű illóolaja esetén *Cl. perfringens* kimutatásakor a 14. napra kezdett csökkenni a sejtszám, az első leoltástól kezdve a 2%-os mintában volt a legkisebb a sejtszám. A 21. napon csak a 2%-os minta esetén nem találtunk tipikus telepeket. *St. aureus* vizsgálata esetén a 7. napig emelkedtek a sejtszámok, míg a 14. napon már egyedül a kontroll minta tartalmazott tipikus telepeket, melyek a 21. napon már nem voltak kimutathatók. Kóliform esetén a 7. napra az első leoltástól csökkentek a sejtszámok, a 14. napon csak a kontroll mintában voltak kóliformok. A 21. napon már a kontroll mintában sem. A 7. napon a 2%-os mintában volt a legkisebb a sejtszám. A mintákban az élesztősejtszám a 7. napra kismértékben változtak, a 14. napra kezdtek el csökkenni, a 21. napon nem találtunk tipikus élesztő telepeket a lemezeken. A négy mintavételkor, minden esetben a 2%-os mintában volt a legkisebb a sejtszám. Az összes telepképző egység szám esetén a 21. napig emelkedtek a sejtszámok, a 1,5%-os és 2%-os minták kivételével, esetükben csökkentek. *Salmonella* a 7. napra csak a kontroll, a 0,5% és az 1,5%-os mintákban.

Rozmaring illóolaja adagolásakor a *Cl. perfringens* vizsgálat során a 7. napon csökkenést tapasztaltunk, mely a 14. napig kismértékű volt, azonban a 21. napra csak a kontroll termékben mutattunk ki tipikus telepeket. Kóliformok esetén is fokozatosan csökkent a sejtszám, a 7. napon a 2%-os, míg a 14. napon az 1,5%-os mintákban volt a legkisebb

a sejtszám. Élesztő esetén a 14. napra az 1,5%-os mintában nem mutattunk ki tipikus telepeket, a többi minta esetén a 21. napon nem. Összes telepképző egységszám vizsgálatakor a 14. napig nőtt a sejtszám, majd a 21. napra az 1,5%-os és 2%-os illóolajokkal kiegészített mintákban csökkenést tapasztaltunk. A 7. napon a 2%-os minta nem tartalmazott *St. aureus* telepeket, a 14. napon egyik minta sem. *Salmonella* esetén a 0,5%-os a 7. napig, a kontroll minta a 14. napig volt pozitív.

Bazsalikom illóolajával történő kiegészítés esetén a minták *Cl. perfringens* fertőzöttségének vizsgálatakor csökkentek a sejtszámok, a 21. napon az 1%-os és a 2%-os minták nem tartalmaztak tipikus telepeket. Kóliform esetén a 7. napra csökkenés alakult ki a sejtszámokban, a 21. napra a kontroll és a 0,5%-os mintákban mutattunk ki tipikus telepeket. Élesztő vizsgálatakor a sejtszám csökkenését figyeltük meg a leoltások előrehaladtával. A 14. napon a kontroll, a 0,5%-os és az 1%-os mintákból, míg a 21. napon kizárólag a kontroll mintában mutattunk ki tipikus telepeket. Összes telepképző egységszám esetén folyamatosan nőtt a sejtszám, az 1%-os minta esetén volt a legkisebb a növekedés. *St. aureus* már az első leoltáskor is csak a 0,5%-os és a kontroll mintában volt kimutatható. *Salmonella* a 7. napon csak a kontroll minta esetén volt pozitív.

Az illóolajok adagolásáról általánosan elmondható, hogy nem minden esetben csökkentették olyan mértékben a vizsgált mikroorganizmusok számát a mintákban, mint ami a koncentrált hatóanyagtartalmuk miatt elvárható lenne. Számos vizsgálat során a 14., vagy 21. napra nem mutattunk ki tipikus telepeket a termékekben,

azonban a 0-14 nap között fogyasztva a terméket a mikrobák még jelen lehetnek az élelmiszerekben. Nem megfelelő konyhatechnikai elkészítés eredményeképpen a fogyasztók megbetegedéséhez is vezethet. Illóolajok ekkora koncentrációban való adagolása, még a 0,5% is, már a termék organoleptikus tulajdonságait, egyéni fogyasztói preferenciáktól függően, is már befolyásolhatja.

Az *E. coli*-val befertőzött kolbászminták esetén, a 16. órától volt csökkenés megfigyelhető, a legkisebb sejtszámot az oregánó illóolaja (0,78 $\mu\text{L}/\text{mL}$) esetén tapasztaltuk. A *Salmonella*-t tartalmazó mintákban szintén a 16. órától volt megfigyelhető a sejtszámokban csökkenés, a bazsalikom illóolaja (5,21 $\mu\text{L}/\text{mL}$) a 72. óráig eredményezte a legkisebb sejtszámot, míg a 72. órában a kakukkfű illóolaja (3,65 $\mu\text{L}/\text{mL}$). *St. aureus* esetén a 48. órától volt megfigyelhető csökkenés a sejtszámokban, viszont a csökkenést mértéke elhanyagolható volt még a zsálya illóolaját (5,21 $\mu\text{L}/\text{mL}$) tartalmazó mintában is.

Az egyszeres MIC mennyiségű illóolajjal kiegészített májpástétommintákban az *E. coli*-val befertőzött minták esetén a 16. órától csökkenést tapasztaltunk, minden esetben. A 24. órától a kakukkfű illóolaját (0,52 $\mu\text{L}/\text{mL}$) tartalmazó mintában volt a legalacsonyabb a sejtszám, míg az oregánó illóolajával (0,78 $\mu\text{L}/\text{mL}$) kiegészített minta sejtszáma és a kontroll sejtszáma között alig volt különbség. *Salmonella* esetén általánosan a 16. órától volt megfigyelhető csökkenés, a bazsalikom illóolaja (5,21 $\mu\text{L}/\text{mL}$) végig a legkisebb sejtszámot mutatta. A sejtszámcsökkenést mindkét illóolajjal kiegészített minta esetén, a várt mértékhez képest elhanyagolható volt.

St. aureus-szal befertőzött minták esetén a kontroll esetén nagyobb volt a sejtszámcsökkenés, mint a zsálya illóolajával (5,21 $\mu\text{L}/\text{m}$) kiegészített minták esetén.

A kétszeres minimális gátlási koncentrációval adagolt májpástétomokban *E. coli* esetén a 16. órától volt tapasztalható csökkenés az oregánó (1,56 $\mu\text{L}/\text{mL}$) és kakukkfű (1,04 $\mu\text{L}/\text{mL}$) illóolajokkal kiegészített mintákban, a kontroll esetén a vizsgálat végéig folyamatosan nőtt a sejtszám. A 24. órától az oregánó illóolaját tartalmazó mintában volt a legkisebb a sejtszám. *Salmonella* esetén a kontroll mintában szintén nőtt a sejtszám, a vizsgálat végéig minden esetben. Az illóolajjal adagolt mintákban a 16. órától csökkent a sejtszám, a kakukkfű illóolaját (7,3 $\mu\text{L}/\text{mL}$) tartalmazó mintában volt a legkisebb a sejtszám a leoltások végéig. A kontroll mintában az *St. aureus* baktériummal befertőzött esetben is folyamatosan nőtt a sejtszám, a zsálya illóolaját kétszeres mennyiségben tartalmazó (10,42 $\mu\text{L}/\text{mL}$) mintákban a 24. órától csökkent.

A befertőzött májpástétomminták esetén elmondható, hogy az illóolajok kétszeres MIC mennyiségben történő adagolás következtében tapasztalt sejtszámcsökkenés kismértékben jelentősebb volt, de ez a csökkenés sem a várt eredményeket adta. Az illóolajokat százszázalékos mennyiségben tartalmazták a májpástétomok. A szakirodalom szerint a termékekben lévő fehérje-, szénhidrát-, zsír-és egyéb tartalom erősen befolyásolja az illóolajok mikrobaellenes hatását. Viszont a termékek organoleptikus tulajdonságait már ekkora mennyiségben is befolyásolják. Végeztünk a kétszeres minimális gátlási koncentrációval érzékszervi bírálatot, mely a disszertációba nem

került bele, az alacsony kóstoló szám miatt (n=10), viszont elmondható, hogy már ekkora adagolt mennyiségekben átlagosan 32%-ban tudták a kóstolók megmondani, hogy az adott minta milyen illóolajat tartalmazott. Legkevésbé a 7,30 $\mu\text{L}/\text{mL}$ -es koncentrációban adagolt kakukkfű illóolaj esetén tudták, a kóstolók 20%-a.

4. Új tudományos eredmények

1. Mind az előkísérletek során készített, mind pedig a kereskedelmi forgalomból beszerzett gyógynövénnyel kiegészített minták esetében igazoltam, hogy a szárított gyógynövények alkalmazása nem gyakorolt számottevő hatást a késztermékek eltarthatóságára és mikrobiológiai minőségére, 0,5; 1,0; 1,5 és 2,0%-os (w/v) mennyiség adagolása mellett sem.
2. Igazoltam, hogy a kereskedelmi forgalomban kapható kolbászmassza esetében, a különböző koncentrációban hozzáadott illóolajok (0,5, 1,0, 1,5 és 2,0%) nem gyakoroltak szignifikáns hatást a vizsgált mikroorganizmusok számára (összes telepkepző egységszám, élesztő- és penészgomba-szám, *Staphylococcus aureus* szám, *Salmonella* spp. jelenlét/hiány), mint ami a koncentrált hatóanyagtartalmuk miatt elvárható volt. Egyes mikroorganizmusok esetén (*Clostridium perfringens*, kóliformok) azonban elmondható, hogy a 2%-os koncentráció alkalmazása mellett nem mutattunk ki tipikus telepeket a termékekben az utolsó mintavétel időpontjában, azonban a 0. és 14. nap között az adott mikrobák még jelen lehetnek a termékekben. A tapasztalt gátlás azonban gyógynövényfüggő volt: a zsálya, az oregánó, a kakukkfű és a rozmarying *Cl. perfringens*, míg

a bazsalikom a *Cl. perfringens* és a kólifformok számát is kimutatási határ alá csökkentette.

3. A májpástétomok esetén igazoltam, hogy azok mesterségesen befertőzött és azokba egyszeres mennyiségű MIC koncentrációt alkalmazva az *E. coli* esetén a mintavétel 16 órájától az alkalmazott illóolajok (bazsalikom, kakukkfű) gátló hatással rendelkeztek, ezek közül pedig a kísérlet végére a kakukkfűnek volt nagyobb mikrobapusztító hatása a kontroll termékkel szemben. A *Salmonella* esetében a bazsalikom fejtette ki legnagyobb mértékben gátló hatását, míg a *Staphylococcus* esetén nem találtunk szignifikáns sejtszám csökkenést a kontroll termékhez képest.
4. A mesterségesen befertőzött májpástétomok esetén bizonyítottam, hogy azokba egyszeres mennyiségű MIC koncentrációt alkalmazva az *E. coli* esetén a mérések 16. órájától az oregánó és a kakukkfű illóolaja képes kifejtteni gátló hatását szignifikáns mértékben, melyek közül a kísérlet 24. órájától az oregánó rendelkezik a nagyobb gátló hatással a kontroll mintához képest, melynek sejtszámai (*E. coli*) a kísérlet teljes időtartama alatt növekvő tendenciát mutattak. A *Salmonella* esetén szintén az oregánó és a kakukkfű rendelkezik gátló hatással, míg a *Saphylococcus* esetén a zsálya rendelkezik gátló hatással (24. órától) a kontroll mintával összehasonlítva.
5. Az eredmények alapján igazoltam, hogy a laboratóriumi körülmények között meghatározott MIC értéket, a mintamátrixban való alkalmazás esetén számos egyéb tényező befolyásolhatja. Igazolást nyert, hogy a legkisebb gátlási koncentráció a termékben

nincs ugyanolyan hatással, az alap és adalékanyagok összetételéből (fehérje- és zsírtartalom, szénhidrátok jelenléte, pH érték) és a laboratóriumi mesterséges környezetből (savval hidrolizált kazein, marhahús kivonat, keményítő vízoldható, agarbeállított pH) adódóan.

5. Publikációs jegyzék

5.1. Értekezés alapjául szolgáló közlemények

- Posgay, M.; Greff, B.; Lakatos, E.; Kapcsándi, K. (2023): Evaluation of Antibacterial Properties of Commercial Essential Oils on Foodborne Pathogens in a Liver Pâté-Type Product, *Chemical Engineering Transaction*, 107 pp. 253-258. (IF: 0,97)
- Posgay, M.; Greff, B.; Kapcsándi, V.; Lakatos, E. (2022): Effect of *Thymus vulgaris* L. essential oil and thymol on the microbiological properties of meat and meat products: a review. *HELIYON* 8 : 10 Paper: e.10812. (IF: 3,776)
- Posgay, M.; Kapcsándi, V.; Lakatos, Erika (2021): Antimicrobial effect of dried sage on the microbiological state of fresh Hungarian sausage. *Acta Agraria Debreceniensis/Agrártudományi Közlemények*, 189-192.
- Posgay, M.; Lakatos, E.; Kapcsándi, V. (2020): The effect of herbs on the microbiological stability and nutritional quality of pariser. *Acta Agraria Debreceniensis/Agrártudományi Közlemények*, 101-104.

5.2. Magyar nyelvű konferencián megjelent tanulmányok

- Posgay, M.; Kapcsándi, V.; Lakatos, E. (2023): Különböző illóolajok antimikrobiális hatásának vizsgálata élelmiszer eredetű humán patogén baktériumok esetében májpestétom típusú termékekben. XXVI. Tavasz Szél Konferencia.
- Posgay, M. (2023): Gyógynövények, valamint azok egyes kivonatainak hatása befertőzött húsipari termékek mikrobiológiájára és eltarthatóságára, Új Nemzeti Kiválóság Program 2022/2023 Konferencia Tanulmánykötet.
- Posgay, M. (2021): Egyes gyógynövények kolbászfélék mikrobiológiai, és beltartalmi paramétereire gyakorolt hatása, Új Nemzeti Kiválóság Program 2020/2021 Konferencia Tanulmánykötet.

5.3. Egyéb, más témakörben megjelent közlemények

- Kapcsándi, V.; Lakatos, E.; Walcz, L.; Posgay, M. (2022): Gyógynövény drogok, valamint gyógynövény illóolajok antimikrobiális hatásának vizsgálata *Escherichia coli*, *Salmonella* valamint a *Staphylococcus aureus* baktériumok tekintetében, *Acta Agronomica Óváriensis* 63 : 1 pp. 33-53., 21 p.