

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

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
egyetemi docens

Dr. Kapcsándi Viktória, PhD
egyetemi docens

**LAMIACEAE NÖVÉNYEK MIKROBAGÁTLÓ
HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA HÚSIPARI
KÉSZÍTMÉNYEK BEN**

**Lamiaceae növények mikrobagátló hatásának vizsgálata húsipari
készítményekben**
Írta: Posgay Miklós Marcel

Készült

a Széchenyi István Egyetem
Albert Kázmér Mosonmagyaróvári Kar
Wittmann Antal Növény-, Állat- és Élelmiszertudományi Multidiszciplináris
Doktori Iskola
Pulay Gábor Élelmiszer-tudományi Doktori Programja keretében

Témavezetők:

Hanczné Dr. Lakatos Erika, PhD és Dr. Kapcsándi Viktória, PhD

Elfogadásra javaslom (igen / nem)

(aláírás)

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

Mosonmagyaróvár,

.....

a Szigorlati Bizottság Elnöke

Az értekezést bírálóként elfogadásra javaslom (igen/nem)

Első bíráló (Dr.) igen/nem

(aláírás)

Második bíráló (Dr.) igen/nem

(aláírás)

Esetleg harmadik bíráló (Dr.) igen/nem

(aláírás)

**A jelölt az értekezés nyilvános vitáján%-ot ért el. Mosonma-
gyaróvár,**

A Bírálóbizottság elnöke

Doktori (PhD) oklevél minősítése.....

Az EDT elnöke

Tartalomjegyzék

RÖVIDÍTÉSJEGYZÉK	7
KIVONAT	9
ABSTRACT	10
1. BEVEZETÉS	11
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	14
2.1. Húsok és hústermékek mikrobiológiai helyzete	14
2.2. Hús és hústermékek hagyományos tartósítása	23
2.3. Gyógy- és fűszernövények hatóanyagainak hatásmechanizmusa és azok húsipari tartósítószerként való alkalmazása	26
2.3.1. Közönséges kakukkfű (<i>Thymus vulgaris</i> L.)	31
2.3.2. Orvosi zsálya (<i>Salvia officinalis</i> L.)	34
2.3.3. Közönséges szurokfű (<i>Origanum vulgare</i> L.)	36
2.3.4. Rozmaring (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.)	38
2.3.5. Bazsalikom (<i>Ocimum basilicum</i> L.)	41
3. ANYAG ÉS MÓDSZER	45
3.1. Előkísérllet során felhasznált alap- és segédanyagok, vegyszerek, alkalmazott eszközök és a kolbász gyártástechnológiája	46
3.1.1. Felhasznált alap- és segédanyagok	46
3.1.2. Mikrobiológiai vizsgálatokhoz felhasznált táptalajok és vegyszerek, azok összetétele	47
3.1.3. Kísérletek során használt eszközök, berendezések	51
3.1.4. Kolbász gyártástechnológiája	51
3.1.5. Kolbászmininták mikrobiológiai vizsgálatának menete	53
3.1.6. A sütőkolbászhoz használt zsályából töltendő kivonat készítése	58
3.1.7. Agar diffúziós lyukteszt	58
3.2. Száritott gyógynövényekkel készült kolbászok alap- és segédanyagai, vegyszerek, eszközök	59
3.2.1. Felhasznált alap- és segédanyagok	59
3.2.2. Mikrobiológiai vizsgálatokhoz felhasznált táptalajok és vegyszerek	59
3.2.3. Kísérletek során használt eszközök, berendezések	60
3.2.4. Kolbászmininták mikrobiológiai vizsgálatának menete	60
3.3. Illóolajjal kiegészített kolbászok alap- és segédanyagai, vegyszerek, eszközök	60
3.3.1. Felhasznált alap- és segédanyagok	60
3.3.2. Mikrobiológiai vizsgálatokhoz felhasznált táptalajok és vegyszerek	61
3.3.3. Kísérletek során használt eszközök, berendezések	61
3.3.4. Kolbászmininták mikrobiológiai vizsgálatának menete	62
3.4. Befertőzött, illóolajokkal kiegészített kolbászok alap- és segédanyagai, vegyszerei, eszközei, illetve a mikrobiológiai vizsgálatok leírásai	62
3.4.1. Felhasznált alap- és segédanyagok	62
3.4.2. Mikrobiológiai vizsgálatokhoz felhasznált táptalajok és vegyszerek	62
3.4.3. Kísérletek során használt eszközök, berendezések	62
3.4.4. Vizsgálatokhoz felhasznált baktériumtörzsek, valamint az illóolajok minimális gátlási koncentrációjának (MIC) meghatározása	63
3.4.5. Befertőzött kolbászmininták mikrobiológiai vizsgálata	64
3.5. Befertőzött, illóolajokkal kiegészített májpástétomok alap- és segédanyagai, vegyszerei, eszközei, illetve a mikrobiológiai vizsgálatok leírásai	65

3.5.1. Felhasznált alap- és segédanyagok	65
3.5.2. Mikrobiológiai vizsgálatokhoz felhasznált táptalajok és vegyszerek	65
3.5.3. Kísérletek során használt eszközök, berendezések	65
3.5.4. Vizsgálatokhoz felhasznált baktériumtörzsek, valamint az illóolajok minimális gátlási koncentrációjának (MIC) meghatározása	65
3.5.5. Májpástétom gyártástechnológiája	66
3.5.6. Májpástétomok befertőzése, illetve mikrobiológiai vizsgálatának menete	67
3.6. Eredmények statisztikai kiértékelése	68
4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELEÉSÜK	69
4.1. Előkísérlet, zsályával kiegészített kolbászmintákkal	69
4.1.1. Gátlóhatás vizsgálata	74
4.2. Száritott gyógynövényekkel végzett vizsgálatok eredményei	75
4.2.1. Száritott zsályával kiegészített kolbász mikrobiológiai vizsgálat eredményei	75
4.2.2. Száritott oregánóval kiegészített kolbász mikrobiológiai vizsgálat eredményei	80
4.2.3. Száritott kakukkfűvel kiegészített kolbász mikrobiológiai vizsgálat eredményei	85
4.2.4. Száritott rozmaringgal kiegészített kolbász mikrobiológiai vizsgálat eredményei	91
4.2.5. Száritott bazsalikkal kiegészített kolbász mikrobiológiai vizsgálat eredményei	97
4.3. Illóolajokkal végzett vizsgálatok eredményei	103
4.3.1. Zsályá illóolajával kiegészített kolbász mikrobiológiai vizsgálat eredményei	103
4.3.2. Oregánó illóolajával kiegészített kolbász mikrobiológiai vizsgálat eredményei	110
4.3.3. Kakukkfű illóolajával kiegészített kolbász mikrobiológiai vizsgálat eredményei	115
4.3.4. Rozmaring illóolajával kiegészített kolbász mikrobiológiai vizsgálat eredményei	122
4.3.5. Bazsalikom illóolajával kiegészített kolbász mikrobiológiai vizsgálat eredményei	128
4.4. A minimális gátlási koncentrációk meghatározása	133
4.5. Befertőzött kolbász mikrobiológiai vizsgálatának eredményei	136
4.5.1. Escherichia coli-val befertőzött minták eredményei	136
4.5.2. Salmonella-val befertőzött minták eredményei	138
4.5.3. Staphylococcus aureus-sal befertőzött minták eredményei	140
4.6. Befertőzött májpástétomok mikrobiológiai vizsgálatának eredményei	141
4.6.1. Escherichia coli-val befertőzött minták vizsgálati eredményei	141
4.6.2. Salmonella-val befertőzött minták vizsgálati eredményei	143
4.6.3. Staphylococcus aureus-sal befertőzött minták vizsgálati eredményei	145
4.6.4. Escherichia coli vizsgálati eredményei, kétszeres MIC mellett	146
4.6.5. Salmonella vizsgálati eredményei, kétszeres MIC mellett	148
4.6.6. Staphylococcus aureus vizsgálati eredményei, kétszeres MIC mellett	150
5. KÖVETKEZTETÉSEK	151
6. ÖSSZEFOGLALÁS	155

7. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK-----	161
8. FELHASZNÁLT IRODALOM-----	163
9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS-----	204
10. PULIKÁCIÓS JEGYZÉK -----	205

RÖVIDÍTÉSJEGYZÉK

EcK	kakukkfű illóolajjal kiegészített, <i>Escherichia coli</i> -val befertőzött minta
EcO	oregánó illóolajjal kiegészített, <i>Escherichia coli</i> -val befertőzött minta
EcKon	kontroll, <i>Escherichia coli</i> -val befertőzött minta
SB	bazsalikom illóolajjal kiegészített, <i>Salmonella</i> Typhimurium-mal befertőzött minta
SK	kakukkfű illóolajjal kiegészített, <i>Salmonella</i> Typhimurium-mal befertőzött minta
SKon	kontroll, <i>Salmonella</i> Typhimurium-mal befertőzött minta
StZs	zsálya illóolajjal kiegészített, <i>Staphylococcus aureus</i> -szal befertőzött minta
StKon	kontroll, <i>Staphylococcus aureus</i> -szal befertőzött minta
pK-0,5%	kétmintás t-próba során kapott p érték a kontroll és 0,5%-os adalékolt minta között
pK-1%	kétmintás t-próba során kapott p érték a kontroll és 1%-os adalékolt minta között
pK-1,5%	kétmintás t-próba során kapott p érték a kontroll és 1,5%-os adalékolt minta között
pK-2%	kétmintás t-próba során kapott p érték a kontroll és 2%-os adalékolt minta között
pEcK-EcO	kétmintás t-próba során kapott p érték az EcK és EcO minták között

pEcK-EcKon	kétmintás t-próba során kapott p érték az EcK és EcKon minták között
pEcO-EcKon	kétmintás t-próba során kapott p érték az EcO és EcKon minták között
pSK-SB	kétmintás t-próba során kapott p érték az SK és SB minták között
pSK-SKon	kétmintás t-próba során kapott p érték az SK és SKon minták között
pSB-SKon	kétmintás t-próba során kapott p érték az SB és SKon minták között

KIVONAT

A húsok mikrobiológiai állapota számos esetben nem kielégítő, bennük számos forrásból származó olyan mikroorganizmusok is lehetnek, melyek nem megfelelő konyhatechnikai előkészítés esetén a fogyasztók egészségét kis, vagy nagy mértékben károsíthatják.

A fogyasztók egészségtudatossága fokozatosan fejlődött az utóbbi években, mellyel nyomást helyeztek az élelmiszerelőállítókra, akik ezáltal kénytelenek a mesterséges eredetű adalékanyagok helyett más megoldást, helyettesítőt keresni. A mesterséges tartósítószer helyett a különböző gyógy- és fűszernövények kivonatai hatásos mikrobagátlók lehetnek.

Az előkísérlet során általunk bekevert kolbászmasszával és szárított zsályával végeztük a vizsgálatokat, melyeket a további kísérletek során ipari forgalomból származó kolbászmasszára, illetve szárított gyógy- és fűszernövényekre cseréltünk, így az ipari körülményekben előforduló mikroorganizmusokkal tudtuk végezni a vizsgálatainkat.

A kísérleteket illóolajokkal is elvégeztük, számos esetben erősebb hatást gyakoroltak a vizsgált mikroorganizmusokra, mint a szárított formában adagolt gyógynövények.

Meghatároztuk a minimális gátlási koncentrációt az illóolajoknak, majd ezeket adagoltuk befertőzött kolbászmasszához és szintén befertőzött májpestétomhoz.

ABSTRACT

The microbiological condition of meat is often unsatisfactory, and it may contain microorganisms from various sources that, if not properly prepared, can cause harm to the health of consumers. In recent years, consumer awareness of health issues has increased, placing pressure on food producers, who are now forced to look for alternatives to additives of artificial origin. Instead of artificial preservatives, extracts of various herbs and spices can be effective microbicides.

In the preliminary experiment, we utilised our sausage mix and dried sage, which we subsequently replaced with an industrial sausage mix and dried herbs and spices in further experiments. This was done in order to enable us to conduct our tests with microorganisms from industrial conditions.

The experiments were also carried out with essential oils, which in many cases had a stronger effect on the microorganisms tested than the herbs added in the dried form.

The minimum inhibitory concentrations of essential oils were determined and subsequently added to bacterium suspension inoculated sausage and also inoculated liver pâté.

1. BEVEZETÉS

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 (Lee és Yoon, 2021). Bár minden országnak megvannak a saját élelmiszer-biztonsági előírásai, az élelmiszer-eredetű járványok száma folyamatosan nő, ami termékvisszahívásokhoz és komoly gazdasági veszteségekhez vezethet (Horn és Bhunia, 2018; Lee és Yoon, 2021). Az élelmiszerekben előforduló mikroorganizmusok évente mintegy 600 millió élelmiszer-fertőzést és 450 000 halálesetet okoznak (WHO, 2020). Az élelmiszer-biztonsági veszéllyel összefüggő mikroorganizmusok (Rivera et al., 2018) többnyire önlimitáló betegségeket idéznek elő, melynek során hányingerrel, hányással, hasi görcsökkel, hasmenéssel és fejfájással lehet számolni (Rivera et al., 2018; Lee és Yoon, 2021). Mindazonáltal az élelmiszer eredetű megbetegedések krónikus következményekhez, sőt halálhoz is vezethetnek a lakosság fokozottan fogékony csoportjainál (idősek, öt év alatti gyermekek, immunhiányos személyek stb.) (Rivera et al., 2018; Lund, 2019).

A hús az egyik legromlékonyabb élelmiszernek számít, köszönhetően a termékben végbemenő mikrobiális és oxidatív romlási folyamatoknak (Kanatt et al., 2008; Boskovic et al., 2015; Tornuk et al., 2015; Wang et al., 2022b). A nyers húsokban leggyakrabban előforduló baktériumok közé a *Salmonella* spp., a *Campylobacter* spp. és az *Escherichia coli* (*E. coli*) (Hennekinne et al., 2015) tartoznak. A baktériumokon kívül a kórokozó gombák, köztük a *Penicillium*, az *Aspergillus*, a *Fusarium* és az *Alternaria* fajok is megfertőzhetnek különféle élelmiszereket (Misra et al.,

2018) és az emberek számára mérgező olyan másodlagos anyagcseretermékeket (például mikotoxinokat) termelhetnek (Medina-Córdova et al., 2018; Oyedeji et al., 2021), amelyek komoly egészségügyi kockázatot jelenthetnek.

Az élelmiszer-eredetű kórokozókkal való szennyeződés kockázatának csökkentése érdekében fejlett feldolgozási és tartósítási technikákat dolgoztak ki az élelmiszeriparban (Horn és Bhunia, 2018). A 20. század közepétől mesterséges tartósítószerket alkalmaznak az élelmiszer-feldolgozás során a különféle termékek eltarthatóságának növelésére (Perito et al., 2020), de az élelmiszerromlásra gyakorolt jótékony hatásuk ellenére a fogyasztók feldolgozott élelmiszerekkel kapcsolatos megítélése általánosságban negatívvá vált, amely abban nyilvánul meg, hogy az adalékanyagoktól mentes alternatívákat részesítik előnyben szintetikus anyagokkal szemben. A „természetes” kifejezést tartalmazó termékjelölések ebből adódóan az élelmiszerek kívánatosabbá váltak a fogyasztók számára, mint a nem természetes analógjaik (Moreira et al., 2005; Perito et al., 2020). Az öko fogyasztás felé irányuló közelmúltbeli trendeknek, valamint a biztonságos és egészséges hústermékek iránti szüntelenül növekvő keresletnek köszönhetően új tartósítási eljárások kerültek előtérbe, beleértve a növényekből, állatokból és mikroorganizmusokból származó biotartósítószereket is (Quesada et al., 2016; Barcenilla et al., 2022). A gyógy- és fűszernövényeket, valamint illóolajukat ősidők óta széles körben hasznosítják ételkészítéshez, azonban az utóbbi években nagy figyelmet kaptak, mint új lehetséges, természetes tartósítószer (Giannenas et al., 2020).

A disszertáció célkitűzései között szerepel olyan gyógy- és fűszernövények kiválasztása, melyek hústermékekhez kiválóan felhasználhatók.

A számos gyógynövénykivonat közül kiválasztani egyet, melynek a szárított formában történő kiegészítés mellett megvizsgálánk az antimikrobás hatását. A vizsgálatok során a megfelelő mintamátrix kiválasztása, ezen mátrix kiegészítése majd mikrobiológiai állapotának felmérése is megtörténik. A vizsgálatokba bevont kivonatok minimális gátlási koncentrációjának meghatározása, majd e koncentráció hozzáadása a választott mintamátrixhoz, mely befertőzésre kerül adott számú mikroorganizmussal, hogy a kivonat rövid távú hatását tudjuk vizsgálni.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Húsok és hústermékek mikrobiológiai helyzete

A hús, melyet legegyszerűbben a melegvérű állatok vázizomzataként lehet definiálni és amelyhez zsír vagy kötőszövet kapcsolódik, értékes fehérje-, vitamin-, esszenciális zsírsav- és ásványianyag-forrás is egyben (Williams, 2007; Bantawa et al., 2018). Bár az egészséges állatok húsa mentes a mikroorganizmusoktól, ennek ellenére a romlandó élelmiszerek közé tartozik (Bantawa et al., 2018), ideális környezetet biztosít mind a romlást okozó, mind a kórokozó baktériumok (pl.: *Acinetobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Lactobacillus* spp., *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp., *Leuconostoc* spp., *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni* és *Clostridium perfringens*) szaporodásához (Boskovic et al., 2015; Favaro and Todorov, 2017). Ezek a mikrobák ugyanis a vágás és feldolgozás különböző szakaszaiban szennyezhetik a friss húst például a levegőből, talajból, vízből, gyomor-bél traktusból, bőrfelületről, vagy a feldolgozó berendezések felületéről (Abdel-Sater et al., 2017), ezáltal komoly biztonsági- és minőségi problémákat idézhet elő a húsiparban (Favaro és Todorov, 2017). A nem megfelelő élelmiszerkezelés és előkészítés során az elsődleges források révén otthoni környezetben is előfordulhat kórokozó mikrobákkal való újrászennyeződés és keresztszennyeződés is (Boskovic et al., 2015).

A húsok mikrobiológiai eredetű romlását nagyban befolyásolja a kiindulási mikrobák száma, a tárolás ideje és hőmérséklete, valamint a húsok fizikokémiai tulajdonságai (Doulgeraki et al., 2012). A különböző forrásból származó szennyeződések elsősorban a vágóhídon a nem megfelelő higiéniai körülményeknek és húskezelésnek köszönhetőek. A vágás előtti

folyamatok, mint a takarmányozás és az állatok elhelyezése, továbbá a szennyezett bőr felülete, az állatok béltartalma és a szennyezett víz mind potenciális forrása lehet olyan patogén mikroorganizmusoknak, mint például *Staphylococcus* spp., *Escherichia* spp. és *Bacillus cereus* (Schlegelová et al., 2004).

A sertéshúsból, pulykahúsból, brojlercsirkéből és tojásból származó áruk a szalmonellózis jellemző forrásaiként ismertek (Boskovic et al., 2015), továbbá felelősek lehetnek más élelmiszer eredetű megbetegedésekért is (Cavadini et al., 1998; Hu et al., 2018). A múltban számos Shiga-toxint termelő *E. coli*-val kapcsolatos járványról számoltak be (Chien et al., 2016). 1999-ben több mint 140 élelmiszer-eredetű megbetegedés volt összefüggésbe hozható az *E. coli* O157:H7 törzsével fertőzött Cervelat szalámi fogyasztásával (Graumann és Holley, 2008). Skóciában 279 *E. coli* O157 szerotípushoz köthető fertőzést jegyeztek fel felvágottakból készült szendvics fogyasztása után (Cowden, 1997; Cowden et al., 2001). Az 1993-as Jack in the Box eset az egyik legnagyobb és leghalálosabb *E. coli* O157:H7 szerotípusa által kiváltott járványa mind a mai napig. A nem megfelelően hőkezelt hamburgerpogácsák fogyasztása több mint 700 embert betegített meg és négy gyermek halálát okozta (Pennington, 2010; Seo et al., 2014).

Az *Aspergillus* és *Penicillium* fajokat korábban izolálták már szárazon sózott húsokból, füstölt húskészítményekből, valamint konzerv baromfi- és marhahúsból is (Odeyemi et al., 2020). Az *Aspergillus candidus*-t szalámi, illetve egyéb feldolgozott hústermékek és szárított halak felületén mutatták ki (Hocking, 2006). Továbbá a *Cladosporium* spp.-ket különféle húskészítményekkel, köztük sonkákkal és kolbászokkal hozták kapcsolatba (Mižáková et al., 2002).

Hús és hústermékek esetében a patogének közé a *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*), a *Salmonella* Typhimurium (*S. Typhimurium*), az *Escherichia coli* O157:H7 (*E. coli*) és más enterohemorrhagiás *E. coli* (EHEC) törzsek, valamint a *Listeria monocytogenes*, az *Arcobacter butzleri*, a *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, az *Aeromonas hydrophila* és a prionok tartoznak (Mor-Mur és Yuste, 2010).

A *Campylobacter jejuni* világszerte a fő kiváltója a bakteriális és a zoonotikus eredetű, emésztőrendszert érintő gyulladásoknak és fertőzéseknek. Legfontosabb forrásának a brojlercsirkét tartják, ami a tartás- és vágás technológiai folyamatoknak, valamint a nem megfelelő fogyasztásra való előkészítésnek köszönhetően lehet veszélyforrás (Birk et al., 2010; Guyard-Nicodème et al., 2015). A fertőzés forrása az állat béltraktusa, amelyből a vágás során az anyagcsere melléktermékek az állat testfelületére kerülhetnek. A baromfik bélrendszerében nagy számban lehet jelen, viszont a fertőzött állatok gyakran nem mutatnak klinikai tüneteket (Sahin et al., 2001). Vágásnál a kontamináció esélye a kopasztás és a belsősegek eltávolítása során nő (Ono és Yamamoto, 1999). Összességében a hőkezelt élelmiszerekben a baktérium túlélési esélye meglehetősen kicsi, mivel hőkezelés hatására elpusztul, azonban a hűtési és fagyasztási eljárásokat túlélheti (Meng és Doyle, 1998; Chan et al., 2001).

A hús- és baromfifeldolgozó iparban a *Salmonella* fő forrása az állatok bélrendszeréből származó anyagcsere-termékek, a tollakról és a bőr felületéről, valamint a technológia során használt berendezésekről származó szennyeződések, melyek a vágási műveletek során befertőzhetik a testeket. Szerotípusai függenek az állat fajától, például a baromfik esetében leggyakrabban a *Salmonella* Gallinarum mutatható ki, míg a sertésekben a *Salmonella* Choleraesuis (Mani-López et al., 2012). Hőérzékenyek,

70°C-on történő hőkezelés hatására elpusztulnak. Éppen ezért a hőkezelés tekinthető a leghatékonyabb megoldásnak a *Salmonella* számának csökkentésére élelmiszerek esetében (Mani-López et al., 2012; Jarvis et al., 2016).

Az *E. coli* az ember, valamint a melegvérű állatok bélrendszerében élő baktérium. Bizonyostörzsei a virulencia faktoraik miatt a patogén mikroba-közé tartoznak, ezen törzseket a következő hat csoportba lehet sorolni: az enteropatogén *E. coli* (EPEC), enteroaggregatív *E. coli* (EAEC), diffúzan adheráló *E. coli* (DAEC), enterotoxikus *E. coli* (ETEC), enteroinvazív *E. coli* (EIEC) és az enterohemorragiás *E. coli* (EHEC) (Donnenberg és Whittam, 2001; Meng et al., 2012). Számos forrásból bekerülhetnek az élelmiszerekbe, például a vágóhídon közvetlenül, az állatok zsigerelésekor a sérült belekből, indirekt módon, a szennyezett vízzel, vagy akár a késztermékek kezelése és csomagolása során is (Jackson et al., 2001). A *Salmonella* mellett az *E. coli* a másik leggyakrabban előforduló élelmiszer eredetű megbetegedést okozó mikroorganizmus (Akbar et al., 2014). A leggyakrabban húсок által terjedő humán patogén mikroorganizmusok a 1. táblázatban láthatók.

1. táblázat: Húsok kontaminációjval terjedő humánpatogén mikroorganizmusok (forrás: Mor-Mur és Yuste, 2009, nyomán)

Húsokban eddig is jelen lévő patogének	Az utóbbi években megjelent patogének
<i>Campylobacter</i> spp.	<i>Campylobacter jejuni</i> (O:19, O:4, O:1), <i>Campylobacter lanienae</i>
<i>Salmonella</i> spp.	<i>Salmonella</i> Typhimurium (DT104, DTU302), <i>S. Enteritidis</i> (PT4, PT8, PT13, PT14b)
<i>Escherichia coli</i>	Enterohemorrágiás <i>Escherichia coli</i> (EHEC)
<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Arcobacter butzleri</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i>
<i>Clostridium botulinum</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Enterobacter sakazakii</i> <i>Helicobacter pylori</i> , <i>Helicobacter pullorum</i>

Az 1980-as évek óta ismerik el a *Listeria monocytogenes*-t, mint élelmiszer eredetű megbetegedést okozó humánpatogén baktériumot (Bell és Kyriakides, 2009). Idősek, terhes nők, gyermekek és immunrendszert érintő betegségben szenvedők a rizikócsoportjai, számukra halálos kimenetelű is lehet a *mikroorganizmus* által okozott bakterémia és meningitisz (Drevets és Bronze, 2008). Mivel hűtve tárolt termékekben is képes szaporodni, ezért igen veszélyes, ha a már fogyasztásra kész ételek fertőződnek meg (Zhu et al., 2006). Húsokban leggyakrabban az 1/2a, 1/2b, 1/c szerotípusok találhatók meg (Hof és Rocourt, 1992). Üzemekben azért is jelenthet komoly problémát, mivel részt vesz a biofilmrétegek kialakulásában, mely igen ellenálló a tisztító- és fertőtlenítőszerrel szemben (Colagiorgi et al., 2017).

A *Staphylococcus aureus* az egyik legjelentősebb élelmiszer eredetű megbetegedést, pneumóniát, sebfertőzést és nozokomiális bakterémiát okozó baktérium (Tiemersma et al., 2004). Enterotoxinja ételmérgezést képes kiváltani, a mérgezés súlyossága az elfogyasztott toxin mennyiségétől és a fogyasztó egészségi állapotától is függ (Le Loir et al., 2003; Smyth et al., 2004). Az élelmiszerek igen széles választékában fordulhat elő, mivel széles hőmérsékleti tartományban (7°C és 48,5°C között) és pH tartományon (2,4 és 9,3 között) képes életben maradni, valamint a nagy nátrium-klorid koncentrációnak (akár 15%) is képes ellenállni. Maga a baktérium hőérzékeny, ezáltal megfelelő hőkezelés esetén nem mutatható ki az élelmiszerekből (Le Loir et al., 2003), ellenben a dehidratálást jól tűri, képes túlélni száraz környezetben, például berendezések felületén, ruházaton, bőrön és az orrnyálkahártyán (Chaibenjawong és Foster, 2011).

A *Clostridium botulinum* a neurotoxin és spóráképzése miatt rendkívül veszélyes, ételmérgezést okozó baktériumnak számít (Maslanka et al., 2013). A spórák oxigén jelenlétében képződnek, hosszú ideig képesek túlélni levegőn (Lund és Peck, 2013). Ubikviter baktérium, azaz a környezetben mindenhol megtalálható, mint például levegőben, talajban, vizekben, halak és emlősök emésztőrendszerében, valamint rákok, kagylók kopolyúiban és zsigereiben. Spórája ellenálló a szélsőséges körülményekkel szemben, túléli az 5-10 órás vízben való forralást is. A botulinum toxin hőérzékeny, 100 °C-on 10 perc alatt inaktiválódik (Saulo, 2023).

A szintén spóráképző és ubikviter *Clostridium perfringens* ételfertőzést okozó baktérium, mely a vegetatív sejtet, vagy spórákat tartalmazó sertéshús és baromfihús elfogyasztását követően vált ki tüneteket (Hailegebreal, 2017; Golden et al., 2009). Az elsődleges fertőzési forrásnak a fertőzött baromfihúst (Nowell et al., 2010) tekinthetjük. Spórája számos

környezeti stressz fakornak ellenáll, mint a nedves hő, ozmotikus nyomás, pH-eredetű stressz, hosszabb ideig tartó fagyasztva tárolás, nitrittartalom és a nagy hidrosztatikai nyomás (Li és McClane, 2006a; Li és McClane, 2006b). A hőkezelés után hűlő hústermékek hőmérséklete áthalad a vegetatív sejt optimális szaporodási hőmérséklettartományán (50–15°C), amely kedvez a baktériumspóra csírázásának, így a végtermékek mikrobiológiai vizsgálata indokolt (Taormina és Dorsa, 2004; Akhtar et al., 2009). Húsipari termékekhez a nátrium-nitritet azért adagolják, mivel gátolja a *Cl. perfringens* szaporodását, valamint a hőkezelés során sérült spórák csírázását (Labbe és Duncan, 1969; Riha és Solberg, 1975).

A *Bacillus cereus* szintén ubikviter baktérium, nem rendelkezik összetettebb tápanyagszükséglettel. Európában, Észak-Amerikában és Japánban 1–22%-ban azonosították élelmiszereredetű megbetegedések kiváltójaként az 1960–1992 évek között (Pirhonen et al., 2005). Az ételmérgezést általában a hőkezelést túlélő spórák okozzák. Könnyen terjedhet növényi eredetű élelmiszerekkel, valamint keresztszennyeződés révén bekerülhet tejbe, tejtermékekbe, húсок felületére és hústermékekbe, pürésített, nyers és kismértékben feldolgozott zöldségekbe, kenyerekbe, fogyasztásra kész zöldségkeverékekbe, rizsbe, pasztőrözött folyékony tojáskészítménybe, fűszerekbe is (Tewari et al., 2015; Ellouze et al., 2021; Rahnama et al., 2023). Többek között kiválthat emésztőrendszeri és nem emésztőrendszeri fertőzéseket is, például meningitist, bakterémiát, pneumóniát vagy gázgangrénát (Kong et al., 2021). Spórái rendkívül ellenállóak, képesek túlélni a különböző környezeti terheléseket, ezáltal komoly kihívást jelent az élelmiszerelőállítók számára (Hennekinne et al., 2015).

A *Yersinia enterocolitica* (*Y. enterocolitica*) a környezetből, szennyezett vízzel, talajjal, tengeri állatokkal kerülhet az élelmiszerekbe, de

emberek, valamint melegvérű állatok, köztük a baromfi és a sertés is hordozhatja. Leggyakoribb hordozója a sertés- és baromfitrágya, melyekkel a nem megfelelő vágóhídi higiénia miatt szennyeződhetnek a húsok. A Közel-Keleten igen komoly problémát jelent még ma is az általa okozott tünetegyüttes, a yersiniózis. A megbetegedés leggyakrabban a csecsemőket és kisgyermekeket érinti, a tünetek között pedig a láz, az alhasi fájdalom és a véres hasmenés figyelhető meg (Borch et al., 1996; Momtaz et al., 2013; Sun és Wu, 2013). A *Salmonella* és *Campylobacter* által okozott megbetegedésekhez hasonlóan, a *Y. enterocolitica* fertőzés is gyakran jár utó-tünetekkel, mint az ízületi gyulladás, szepszis, erythema nodosum (bőrbetegség, mely jellegzetes piros, fájdalmas csomókat okoz a bőrön) és súlyosabb esetekben halál (Howard et al., 2006; Bonardi et al., 2013). Két nagyobb yersiniózis járvány ismert, ezektől eltekintve sporadikusan fordul elő (Duan et al., 2014). A baktérium az embert általában víz, valamint nyers, vagy nem megfelelő mértékben hőkezelt élelmiszer útján fertőzi meg, de előfordulhat a nem megfelelő személyi higiéniából eredő fertőzés is (Ninios et al., 2014; Felin, 2019).

A 2. táblázatban foglaltam össze a húsokban előforduló patogén mikroorganizmusok által kiváltott megbetegedések különféle megjelenési formáit, valamint a fertőzések fő forrásait.

2. táblázat: Húsokban előforduló baktériumok, az általuk okozott betegségek és a fertőzések főbb forrásai
(forrás: Mor-Mur és Yuste, 2010, nyomán)

Mikroorganizmus	Kiváltott tünetek, betegségek	A fertőzés forrása
<i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Campylobacter</i> spp.	Reaktív ízületi gyulladás, hasnyálmirigy-gyulladás, agyhártyagyulladás, endocarditis, Guillain-Barré	Nyers és alulhőkezelt baromfi és baromfitermékek
<i>Salmonella</i> Typhimurium <i>Salmonella</i> Enteritidis	Krónikus ízületi gyulladás	Baromfihús, tojás, marhahús, sonka, sertés virsli, szalámi
<i>Enterohemorrhagic Escherichia coli</i> , <i>E. coli</i> O157:H7 és más Shiga toxin termelő <i>E. coli</i>	Hemorrágiás vastagbélgyulladás, HUS szindróma, thromboticus thrombocytopeniás purpura	Alulsütött darált marhahús, pulykatekeres, szalámi, marhasült, szárított vadhús
<i>Listeria monocytogenes</i>	Meningitis, meningoencephalitis, vérmérgezés, spontán abortusz	Nyers húsok és húskészítmények (szalámi), fogyasztásra kész sertéshústermékek, alulsütött csirke, belső szervek
<i>Arcobacter butzleri</i> , <i>Arcobacter</i> spp.	Szeptikémia, bakteriémia	Nyers baromfi-, sertés-, marhahús és a belőlük készült termékek
<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i>	Crohn betegség	Nyers és feldolgozott húsok
<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Aeromonas</i> spp.	Peritonitisz, endocarditis, tüdőgyulladás, kötőhártya-gyulladás, húgyúti fertőzések	Darált marha-, sertés- és csirkehús, füstölt kolbász, májpástétom, főtt sonka
<i>Enterobacter sakazakii</i> (2007 után <i>Chronobacter sakazakii</i>)	Újszülöttkori agyhártyagyulladás, bakterémia, nekrotizáló enterocolitis, vastagbélgyulladás, kötőhártya-gyulladás	Darált marhahús, pácolt húsok, kolbász
<i>Helicobacter pylori</i> , <i>Helicobacter pullorum</i>	Gyomorfekélyés-rák, májbetegségek	n.a.*

*n.a.: nincs adat

2.2. Hús és hústermékek hagyományos tartósítása

A húsok és a hústermékek mikrobiológiai biztonságának és minőségének biztosítása érdekében számos kémiai, fizikai és biológiai eljárást alkalmazunk (Delmore et al., 2000; Yu et al., 2021). Bár a hagyományos hústartósítási technikákat, mint például a szárítást, a hőkezelést, a füstölést, a pácolást, hűtést és fagyasztást már évszázadok óta sikeresen alkalmazzák (ur Rahman et al., 2018), azok hatékonyságát számos tényező befolyásolhatja, ezek között szerepel például a hús biológiai összetétele, a nagyméretű ipari berendezések alkalmazása, magasabb működési költségek, csökkent hatékonyság, megfelelő tartósság elérése (Tajkarimi et al., 2010; Zhou et al., 2010; Misra és Jo, 2017; ur Rahman et al., 2018; Ren et al., 2021). Ezzel szemben a napjainkban alkalmazott vegyszerek vagy biotartósítószeres hozzáadása egy praktikusabb megközelítést nyújthat (Ren et al., 2021).

Általánosan az élelmiszerek fogyaszthatóságát és eltarthatóságát a tárolási hőmérséklet, a légköri oxigén, a nedvesség, a vízaktivitás, a fény, endogén enzimek, valamint a különböző mikroorganizmusok jelenléte határozza meg. Ezen tényezők egyesével, vagy együttesen ízbeli, színbeli és textúrabeli változásokat tudnak előidézni, melyek befolyásolhatják a termékek organoleptikus tulajdonságait, valamint fogyaszthatóságát. A húsok tartósítási módszerei három csoportba sorolhatók, melyek alapja a hőmérséklet és a vízaktivitás, valamint a különböző gátló folyamatok alkalmazása. Egyik legegyszerűbb módszer a hűtés, mely során az élelmiszereket 0 és 8 °C közötti hőmérsékleten tárolják. Ezen technológia alkalmazása során leginkább a termofil és a mezofil mikroorganizmusok érintettek, amelyek generációs ideje így akár 100 órára is nyúlhat. Azonban több mik-

roba (pl.: *L. monocytogenes* és *Cl. botulinum*) ezen a hőmérsékleten is képes szaporodni és emellett toxint is termelni (Zhou et al., 2010; Dave és Ghaly, 2011; Bíró, 2014;).

A fagyasztás az alkalmazott módszertől függően, akár káros hatással is lehet a hús állományára. A lassú fagyasztás esetében, amely $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történik, a hús teljes átfagyásához mérettől függően több napra is szükség lehet. Ez esetben a keletkező jégkristályok nagyobbak lesznek, így a sejtek és izomrostok károsodhatnak. A másik módszer a gyors fagyasztás, mely $-30\text{ – }-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on megy végbe, amely során mérettől függően a húsnak nagyjából 0,5–4 óra szükséges a teljes átfagyáshoz. A gyors fagyasztás esetén kisebb jégkristályok képződnek, amelyek nem fogják szétszakítani a sejteket és az izomrostokat. Kristályképződés során kritikus zóna a $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ és a $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérséklet, amely zónában kifagy a víz jelentős része, körülbelül 50–80%-a. Ahhoz, hogy aprószemcsés kristályokat kapjunk, a kritikus hőmérsékletnél minél gyorsabban tovább kell hűtenünk a terméket. A fagyasztás sebessége nemcsak a hús méretétől és a termikus tulajdonságaitól függ, hanem az alkalmazott fagyasztási hőmérséklettől, az alkalmazott módszertől és a felhasznált csomagolóanyagtól is. Egyes kutatások szerint, a fagyasztott húrok tárolására az ideális hőmérséklet $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$, mivel ezen a hőmérsékleten az enzimatis reakciók, az oxidáció és a jég újra kristályosodása minimális és a húst érintő változások bekövetkezése valószínűtlen (Hansen et al., 2004; Zhou et al., 2010; Leygonie et al., 2012; Bíró, 2014).

A hőkezelési eljárások jelentősebb hatással bírnak az egyes mikroorganizmusokra, mint a hűtés és fagyasztás, mivel a sejtfallal található fehérjék $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on kicsapódnak, melynek következményeként többségük

elpusztul, emellett pedig az egyes törzsek által termelt toxinok is inaktiválódnak. Ez alól is vannak kivételek, mint például a *Staphylococcus aureus* által termelt enterotoxin (Bhatia és Zahoor, 2007; Bíró, 2014). A hőkezelési eljárás hatékonyságát az is bizonyítja, hogy a 70 °C-on, 2 perces hőntartással végzett hőkezelés 6 nagyságrenddel képes csökkenteni a *L. monocytogenes* számot (Ježek et al., 2019).

A dehidratálás, azaz a szárítás, az egyik legrégebbi hústartósítási módszer, amelynek lényege, hogy a fogyaszthatósági időt a termék vízakтивitásának (a_w) csökkenése teszi lehetővé. A vízakтивitás 0 és 1 közé eső szám, mely minél közelebb van az 1-hez, annál nagyobb a termék vízakтивitása, ezáltal a termék víztartalma is. Ez az érték a nyers, friss húsok esetében átlagosan 0,99. Szárítás során csökken a termékek vízakтивitás értéke, amelynek következményeként minden mikroorganizmus meghatározott értékig képes csak életben maradni. Például a *Staphylococcus aureus* 0,860 a_w érték alatt nem képes szaporodni. A hústermékek azonban víztartalmuk miatt kiváló környezetet biztosítanak a mikroorganizmusok számára, ezért a rendkívül romlandó élelmiszerek közé sorolják őket. Amennyiben hővel történik a szárítás, ez esetben íz-, szín- és tápértékvesztéssel kell számolni a hő által okozott degradáció miatt (Zigerlig, 2008; Traffano-Schiffo et al., 2014; Taormina és Sofos, 2014; Aksoy et al., 2019;).

A kémiai tartósítások között a füstölés az egyik legősibb tartósítási eljárás, mely során a húsok a nem tökéletesen égő fa füstjének vannak kitéve. A hús felületének szárítása, továbbá meleg, vagy forró füstölés esetén a keletkezett hőhatás is segíti a hús tartósítását. A többféle füstölési eljárás közül a hidegfüstölést nem sorolhatjuk a tartósítási módok közé, ezt a füstölési módot célszerű egy másik módszerrel kombinálni, annak érdekében, hogy tartósító hatást érjünk el. Hideg füstölés során nem történik jelentős

mikrobapusztulás, a hőmérséklet nem elegendően magas ehhez (Satish Kumar, 2019). A terméknek csökken a vízaktivitása, de lassabban, mint a meleg, vagy forró füstölés esetén. A füstölés célja többek között a termék ízének és színének kialakítása és hőkezeléssel egybekötve pedig a termékben lévő mikroorganizmusok pusztítása (Deák et al., 2006; Chellaiah et al., 2018; Gómez et al., 2020).

A húsok tartósítása során számos lényeges paramétert kell figyelembe venni, mint a hús pH értékét, vízaktivitását és bizonyos termékek esetében a hozzáadott mikrobakultúrák jelenlétét. A legtöbb mikroorganizmus számára 5 és 8 pH érték között optimális a környezet, míg a romlást okozó mikroorganizmusok 5,5–7 pH érték között képesek életben maradni. A pH csökkentése tehát kiváló módszer, melyet a húsiparban kolbászok, szalámik tartósítására alkalmazunk. Mikor a pH érték 5 alá csökken, a romlást okozó mikroorganizmusok többsége elpusztul. A 4,6-os pH érték alatt pedig már a *Cl. botulinum* sem képes szaporodni. A legtöbb húsipari termék pH értéke e fölött a 4,6-os érték fölött van (Russel et al., 1996; Hardin, 2016).

2.3. Gyógy- és fűszernövények hatóanyagainak hatásmechanizmusa és azok húsipari tartósítószerként való alkalmazása

Az antimikrobiális szerek, az antioxidánsok és az antienzimatikus tartósítószer meg hosszabbíthatják a húskészítmények eltarthatóságát anélkül, hogy drasztikusan megváltoztatnák a termék állományát, ízét vagy a színét. Mindazonáltal a fogyasztók aggodalmukat fejezték ki a mesterséges vegyi anyagok alkalmazásával kapcsolatban, azok potenciálisan káros egészségügyi hatásai miatt (Pesavento et al., 2015; Anand és Sati, 2017; Roobab et al., 2021; Yu et al., 2021). Például a nitritek és nitrátok

amidokkal és aminosavakkal reagálva rákkeltő N-nitrozó vegyületeket képezhetnek (Sepahvand et al., 2021; van Bredam et al., 2021). A benzoátok és a szorbátok hajlamosak potenciális mutagén vegyületek képzésére (Piper és Piper, 2017), a szulfittartalmú tartósítószer, a mérgező parabének, a metil-izotiazolinon és a metil-klór-izotiazolinon pedig erős allergének (Anand és Sati, 2017).

A nemzetközi szakirodalom szerint a gyógy- és fűszernövényeket 0,05-0,1 v/v%, illetve m/m%-ban kell az élelmiszerekhez adagolni a hatékony antimikrobiális hatás elérése érdekében. Néhány növény erősebb bioaktivitással rendelkezhet, így már kisebb koncentrációban is hatásosak lehetnek (Tajkarimi et al., 2010). Korábbi kísérleteim szerint húskészítményhez adagolt (2% termék szárazanyag-tartalomra vonatkoztatva) szárított zsálya sem tartalmazott olyan mennyiségű hatóanyagot, ami a termék mikrobiológiai állapotára és eltarthatóságára hatással lenne, kizárólag az ízt, valamint a termék színét befolyásolja (Posgay et al., 2021).

A természetes eredetű antimikrobiális hatású vegyületek élelmiszerekhez való hozzáadása hatékony módja lehet a romlást és élelmiszereredetű megbetegedést okozó mikroorganizmusok visszaszorításának (Tajkarimi et al., 2010), valamint a fogyasztói elfogadottság növelésének (Yu et al., 2021). A gyógy- és fűszernövényekből származó illóolajok a mesterséges élelmiszer-adalékanyagok ideális alternatívái lehetnek (Busatta et al., 2008) erős antimikrobiális hatásuk miatt (Yu et al., 2021).

Az illóolajok növényi eredetű hidrofób, aromás vegyületek, amelyeket vízgőz desztillációval, különböző egyéb extrakciós módszerekkel, valamint fermentációval lehet kinyerni a növények különböző részeiből. A hatóanyagokat két csoportra lehet bontani, az egyik csoportba a terpének, terpenoidok, míg a másikba az aromás vegyületek tartoznak (Kerekes

et al., 2015). A legtöbb illóolaj lipofil komponenseinek köszönhetően átjut a sejtfalon, a sejten belül pedig a sejt plazmában akkumulálódik és destabilizálja annak membránját. Ezen illóolajok használata nemcsak a mikrobiológiai állapotra van hatással, hanem az oxidációt is elnyújtják, ezáltal késleltetik a romlást. A legerősebb antibakteriális hatással azon illóolajok rendelkeznek, melyekben nagy a fenolos vegyületek aránya (Boskovic et al., 2015). Ilyen a karvakrol és a timol, melyek fő komponensei az oregánó és a kakukkfű illóolajának. Ezek az összetevők a Gram-negatív baktériumok sejtfalát bontják le, ezáltal nő a membrán permeabilitása, így ATP és lipopoliszacharid jut ki a sejtől (Lambert et al. 2001.).

Megemlítendő azonban, hogy ezeknek a másodlagos anyagcsere-termékeknek a gátló hatása nagymértékben függ kémiai összetételüktől (Nazzaro et al., 2013), amelyet általában a környezeti tényezők, a talaj-klimatikus viszonyok, a genetikai háttér, a betakarítás időpontja, a szárítási módszerek, a szárítás folyamata és az extrakciós módszerek is befolyásolhatnak (Bendiabdellah et al., 2013; Boskovic et al., 2015; Gu et al., 2019; Sadeh et al., 2019). Általában azoknak az illóolajoknak van a legerősebb antimikrobás hatása, melyeket a virágzás alatt, vagy után gyűjtöttek (Burt, 2004). Az illóolajok aromás, illékony, szerves és szervetlen vegyületek keverékei a növény fajtától és fajtájától függően kivonhatók azok különböző részeiből, úgymint a virágokból, gyökerekből, kéregből, levelekből, magvakból vagy akár a szárrészekből (Binello et al., 2014; Adbel-Kader et al., 2019.). Igen nagy előnyük, hogy ellentétben a különböző antibiotikumokkal, a patogén mikroorganizmusok nem fejlesztenek ki rezisztenciát az illóolajokkal szemben, mivel a kémiai összetételükben jelentős változatoságot mutatnak, ezáltal a hatásmechanizmusuk is eltérők (Baldim, et al., 2018). Általában 20–60 kis molekulatömegű illékony vegyületből állnak,

főleg terpénekből, terpenoidokból, alkoholokból, fenolokból, szénhidrogénekből, aldehidekből és származékaikból (Wadhwa et al., 2017; Basavegowda és Baek, 2021;). A legtöbb esetben a fő összetevők (20–95%) határozzák meg az illóolajok biológiai tulajdonságait (Shaaban et al., 2012), de más kisebb és kevésbé aktív komponensek is hozzájárulhatnak az általános antimikrobiális aktivitáshoz (Lv et al., 2011; Ghabraie et al., 2016). Bizonyítottan a fenolokban gazdag illékony anyagok mutatják a legerősebb antimikrobiális hatást mind a Gram-pozitív, mind a Gram-negatív baktériumokkal szemben (Boskovic et al., 2015), mivel a hidrofíli rész kölcsönhatásba léphet a sejtmembrán poláris részével, míg a hidrofób rész reagál a sejtmembrán apoláris részével. Ezáltal az olyan összetevők, mint a timol, könnyen behatolhatnak a mikroorganizmusok sejtmembránjába megrongálva azt, amely ezután enzimrendszer károsodást, sejttartalom-csökkenést és végső soron sejthalált okozhat (Lambert et al., 2001; Basavegowda és Baek, 2021). Az illóolajok antimikrobiális aktivitásának azonban különböző célpontjai vannak és többféle hatásmechanizmus által fejtik ki sztatikus vagy citotikus hatásukat, befolyásolva a sejtlégzést, az energia-anyagcserét, a DNS-t, a sejtfalat vagy a sejtmembránt. Számos esetben károsíthatják az RNS-t, csökkenthetik az ATP szintjét, a membránpotenciált és a káliumion mennyiségét a sejtben, ezáltal felborulhat az ozmózis-egyensúly és a glükóz lebontása, de leállíthatják a protonpumpákat, illetve az enzimek aktivitása is megállhat (Burt, 2004; Kerekes et al., 2015; Ju et al., 2018). Éppen ezért nehéz megjósolni egyes törzsek fogékonyágát az illóolajokkal és azok egyes hatóanyagaival szemben (Kerekes et al., 2015). Ezenkívül a Gram-pozitív baktériumok általában fogékonyabbak a sejtfalat célzó illóolajokkal szemben, mint a Gram-negatív fajok, amelyek külső membránréteggel rendelkeznek (Burt, 2004; Basavegowda és Baek,

2021). Ennek a hidrofil lipopoliszacharid membránnak a jelenléte korlátozza a hidrofób vegyületek átjutását és a Gram-negatív baktériumok számára nagyobb toleranciát biztosít az illóolajok komponenseivel szemben (Tajkarimi et al., 2010; Hyldgaard et al., 2012). Ezzel szemben a Gram-pozitív baktériumok sejtfa kevéssé összetett, 90–95%-ban peptidoglikánt tartalmaz, amely lehetővé teszi a hidrofób vegyületek diffúzióját (Nazzaro et al., 2013). Emellett az illóolajok és a bioaktív összetevők fungicidként is hathatnak azáltal, hogy egy elektrononorról töltés-transzfer komplexet képeznek a gombasejtek számára (Chutia et al., 2009; Bhuyan et al., 2010). Egyes illóolajok képesek lehetnek adaptív választ kiváltani a gombák esetében (Kerekes et al., 2015), bizonyos patogén fajok illóolajkomponenseket használnak fel az appresszórium (hifopódium) képződésének, csírázásának és fertőzésének elindításához (Chutia et al., 2009).

In vivo vizsgálatok során bizonyították, hogy az illóolajok hatékonysága csökkenhet, mivel az egyes termékekben lévő zsírok, ásványi sók, fehérjék, szénhidrátok jelenléte és mennyisége, valamint a termék pH-ja hatással lehetnek az illókomponensek biológiai aktivitására. Éppen ezért ipari felhasználás esetén az illóolajokat nagyobb koncentrációban kellene alkalmazni a megfelelő hatásmechanizmus eléréséhez, amely azonban a termék organoleptikus tulajdonságait negatívan befolyásolná (Busatta et al., 2007; Luciano és Holley, 2009; Escobar et al., 2020). Az ajánlott mennyiség, mely a felhasznált illóolajtól is függ, akár 10–100-szoros mennyiséget is takarhat, mely nagyban függ az élelmiszer típusától (Burt, 2004).

Pesavento et al. (2015) vizsgálataik során darált húshoz adtak oregánó, rozsmaring és kakukkfű illóolajat és azt tapasztalták, hogy a termék tömegére vetített 0,5%-nál nagyobb koncentráció már negatívan befolyá-

solta az organoleptikus tulajdonságokat, így a 0,5%-os koncentrációt határozták meg, mint érzékszervileg elfogadható maximális hozzáadott mennyiség (Sikkema et al, 1995; Food Safety, 2013; Pesavento et al, 2015; Anand és Sati, 2017).

2.3.1. Közönséges kakukkfű (*Thymus vulgaris* L.)

A kakukkfű a Lamiaceae családba tartozó virágos, bokros, fás szárú, örökzöld növény, mely Dél-Európában és a Földközi-tenger partján őshonos. Erősen aromás, szürkés-zöld levelei vannak, virágai lila, vagy rózsaszínűek lehetnek (Christopher, 2008). A növényt gyulladásokkal összefüggő betegségek kezelésére használják még napjainkban is, mint például a reuma, izomduzzanatok, rovarcsípések vagy egyéb gyulladásokhoz köthető fájdalmak (Namsa, et al., 2009).

Az élelmiszeriparban íze, illata, valamint antioxidáns- és antimikrobás hatása miatt alkalmazzák. Használata történhet friss, vagy szárított formában is, önmagában vagy fűszerkeverékekben, esetleg oleorezinekben (kivonat) (Stahl-Biskup és Venskutonis, 2012).

A kakukkfű illóolaja antiszeptikus, vírusellenes és antimikrobás hatású, továbbá antioxidáns és karminatív hatással is rendelkezik. Soković és van Griensven 2006-ban kimutatták, hogy a kakukkfű illóolaja kiválóan alkalmas gombák (*Verticillium fungicola*, *Trichoderma harzianum*) és baktériumok (*Pseudomonas tolaasii*) ellen.

A kakukkfű illóolaja és kivonatai széles spektrumú antibakteriális tulajdonsággal rendelkeznek, az élelmiszerromlást és ételmérgezést okozó baktériumok ellen (Dobre et al., 2001), beleértve a *Campylobacter jejuni*-t, *Salmonella* Enteritidist, *E. coli*-t, *St. aureus*-t és *L. monocytogenes*-t.

Vizsgálataik során Szczepaniak et al. (2011) egy, a kakukkfű komponenseiből álló keveréket alkalmaztak (timol, karvakrol, p-cimol), amely 25,7%-kal csökkentette a *Brochothrix thermosphacta* növekedési sebességét. Mivel ez a baktérium a módosított atmoszférájú csomagolással készült, hűtött húskészítmények mikroflórájának tagja, ezáltal a kutatók sikeresen javították az alkalmazott darálthús fogyaszthatósági idejét *in situ* körülmények között (Smith-Palmer et al., 1998; Szczepaniak et al., 2011).

Halhús esetén a kakukkfű illóolajának alkalmazása fenn tudja tartani a normál pH tartományt (5,7–6,6), ami a nem megfelelő körülmények között tárolva, a növekvő pH érték hatására megromlik. Ezen túlmenően az illóolaj képes megakadályozni az *Enterobacteriaceae* család tagjainak és a *Pseudomonas* nemzetség szaporodását is. Angis és Oguzhan (2013) 0,8 v/v%-os illóolaj koncentráció alkalmazása mellett meg tudták növelni a friss szivárványos pisztráng fogyaszthatóságát, módosított atmoszférájú csomagolásban (50% CO₂, 50% N₂).

Escherichia coli O157:H7-es szerovariánsával szemben az illóolaj bakteriosztatikus (625 µL/mL) valamint baktericid hatással (1250 µL/mL) rendelkezett, hús és húskészítmények, tej, joghurtok, víz, zöldségek és gyümölcsök esetében (Burt és Reinders, 2003). Kassem et al. (2011) szerint a kakukkfű illóolaja (0,04%; 0,06%) képes csökkenteni a marha húspogácsák mikroba számát (*Enterobacteriaceae* család, *Staphylococcus* spp., proteolitikus és lipolitikus baktériumok, illetve penészgombák esetében). Smith-Palmer et al. (2001) lágy sajthoz adagolták 1%-ban az illóolajat, ezáltal gátolva a *L. monocytogenes* és a *S. Enteritidis* fajok szaporodását (Smith-Palmer et al., 2001; Nguefack et al., 2004).

Az illóolaj *St. aureus*, *S. enteritidis*, *E. coli* és *B. cereus* esetében 38, 46, 39 és 35 mm-es gátlási zónát eredményezett, Dobre et al. (2011)

kísérletei alapján. Sheeladevi és Ramanathan (2012) hasonló eredményt értek el, amely során kimutatták, hogy a *Campylobacter* spp. (gátlási zóna 20 mm), *Listeria* spp. (24 mm), *Yersinia* spp. (22 mm), *Salmonella* spp. (21 mm) és *Pseudomonas* spp. (22 mm) érzékenyek voltak adott illékony vegyületekkel szemben. A minimális gátlási koncentráció 80–100 $\mu\text{L}/\text{mL}$, míg a minimális baktericid koncentráció 320–400 $\mu\text{L}/\text{mL}$ volt.

A kakukkfű illóolajának antibakteriális hatása tovább erősíthető egyéb illóolajokkal való együttes alkalmazás révén: *St. aureus* esetében a fahéjfával (*Cinnamomum zeylonicum*) míg *E. coli* esetében a rózsafa (*Aniba rosaeodora*) és a citromfű (*Melissa officinalis*) illóolajokkal készült kombinációk bizonyultak hatékonyak.

A különböző élelmiszerek eltérő eredetű fertőzései hatással lehetnek a fogyaszthatósági időre és ezáltal a termék piaci értékére. A gombás szennyeződések emberi fogyasztásra alkalmatlanná tehetik az élelmiszert, nemcsak a kifejlődött telepeik miatt, hanem bizonyos esetekben a mikotoxin termelés miatt is. A keskenylevelű kakukkfű (*Thymus serpyllum*) illóolajának gőze gombaellenes hatást mutatott a különböző *Aspergillus* törzsekkel szemben, mint az *A. flavus*, az *A. parasiticus*, valamint az *A. ochraceus* (Dobre et al., 2011).

A kakukkfű illóolaja megakadályozza a konídium csírázását és növekedését, az olyan élelmiszerkárosodást okozó és mikotoxin termelő fajok esetén is, mint például a *Fusarium* és *Aspergillus* nemzetségek tagjai akár már 1000 ppm-es koncentrációban (Nguefack et al., 2009).

Klaric et al. (2007) timol és kakukkfű illóolaj alkalmazásával értek el erős fungicid és fungisztikus hatást *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Trichoderma*, *Mucor* és *Rhizopus* fajok esetén. A gasztrointe-

szinális betegségekhez köthető *Rhizopus oryzae*-vel szemben is gombaelenes hatással rendelkeztek: a mért minimális gátlási koncentráció 128–512 µg/mL volt (Klaric et al., 2007).

A kakukkfű illóolaja teljes mértékben gátolja az *Aspergillus flavus* micéliumainak növekedését, már 0,7 µL/mL koncentráció esetén. Bouddine et al. (2012) 10 v/v%-os kakukkfű illóolaj-oldattal 70 milliméteres gátlási zónát mutattak ki *Aspergillus niger* esetében, mely gabona, gyümölcsök, takarmányok, zöldségek vagy akár a tejtermékek minőségromlását okozhatja. A timolban és kakukkfű illóolajban gazdag oldat számos célra alkalmazható, például penészes falak fertőtlenítésére, ezáltal csökkenthető többek között az otthoni élelmiszerek penészspórákkal történő kontaminációja (Kumar et al., 2008; Bouddine et al., 2012)

2.3.2. Orvosi zsálya (*Salvia officinalis* L.)

A zsályát a Földközi-tenger partvidékén, Európában, illetve Észak-Amerikában termesztik. A növény számos néven előfordul, közönséges zsálya, konyhai zsálya, kerti zsálya vagy arany zsálya. Az egyik legrégebben használt gyógynövénynek tekintik, melynek nagyjából 900 fajtája fordul elő a világon, ezek közül azonban csak néhány használható fel a gyógyászatban, illetve az élelmiszeriparban (Sensoy, 2007).

Az orvosi zsályából nyert illóolaj jótékony hatással van a légzőszervi és emésztőszervi betegségek megelőzésére, a szívre és vérkeringésre, az anyagcserezavarok és az endokrin betegségek javítására (Badiee et al., 2012).

Hatásos lehet izomfájdalmak, krónikus stressz, vagy a mentális feszültség ellen. Szájvízként alkalmazva torokfájás, ínyfertőzés, szájfelyek és megfázás ellen is alkalmazható. A zsálya illóolaj aromaanyagai

között megtalálható a kámfor és a tujon, melyeknek köszönhetően a parfümiparban is használják. Nyugtató hatást gyakorol a verejtékmirigyekre, csökkenti az egész test izzadását (Mohammad et al., 2011).

Napjainkban a mediterrán étrend egyik alapfűszere, melyet friss élelmiszerekben, illetve hústermékekben is alkalmazunk. A szőrrel borított és a fehéres színben játszó leveleit teaként fogyasztják, ugyanakkor szárított formában a hústelekeknek kellemes ízt és illatot kölcsönöz főzés hatására. Ajánlások alapján kifejezetten kellemes ízesítő hatással rendelkezik máj, kacsá-, liba-, csirke- és vadhús esetén. Az európai gasztronómia első-sorban burgonya és szószos ételek mellé használja. Olaszországban friss leveleit fogyasztják, kenyérrel és vajjal, egészségvédő hatásuk miatt. Friss zsályaleveleket a különböző cukrászsüteményekben is találhatunk, mert javítja azok organoleptikus tulajdonságait. Az orvosi zsálya leveleket frissen, vagy szárított formában levesekhez, tésztaételekhez, előételekhez és körettekhez alkalmazzák. Ecethez adva hatásosnak bizonyult cukorbetegség, gyomorfájás, depresszió és hormonális problémák megelőzésére, illetve tüneteinek kezelésére (Sensoy, 2007; Karamanos, 2010; Mohammad et al., 2011).

Jelentős szerepet tölt be az élelmiszeriparban, mint természetes antioxidáns. Ezen tulajdonsága különösen függ a levelek fenolos komponenseitől. Az antioxidánsok megakadályozzák az oxidatív hatásokat a sejteken belül, ezáltal számos betegség kezelésében például szív- és érrendszeri betegségek esetén jelentős szerepet töltenek be (Sensoy, 2007).

A gyógynövényekből származó flavonoidok, a fahéjsav származékok, a kumarinok, a tokoferolok és a fenolos savak a legfontosabb antioxidánsok között találhatóak ezek a vegyületek megakadályozzák az élelmi-

szerekben található alkotók oxidációját (Sensoy, 2007). A zsályában található főbb fenolos komponensek a rozmaringsav, a karnozinsav és a szalvianolsav (Sensoy, 2007).

A zsályát sikeresen alkalmazták már élelmiszerek minőségének megőrzésében, mivel képes késleltetni, vagy csökkenteni a mikroorganizmusok szaporodásának intenzitását. Éppen ezért a zsályakivonat alkalmazható lehet hústermékek káros flórájának visszaszorításában (Rasmy, 2012).

A lipid-oxidáció következtében az élelmiszer minősége, illetve azok minőségmegőrzési ideje csökkenhet. A zsálya etanolos extraktumának használata olyan élelmiszerekben, mint a majonéz, vagy fagyasztott hústermékek képes lassítani, vagy megállítani ezeket a káros oxidációs folyamatokat. Lopez-Bote et al. (1998) vizsgálataik során a zsálya extraktummal kiegészített táppal takarmányozott brojlercsirkék 70 °C-on előkészített húsában az olajok késleltetett oxidációját figyelték meg. Továbbá hűtve tárolás alatt az oxidáció mértéke csökkenhet szarvasmarha, illetve sertéshúsban, melyekhez zsálya illóolaját adták (Lopez-Bote et al., 1998; Rasmy et al., 2012;).

Ezen túlmenően a zsálya mikrobagátló hatással is rendelkezik, amellyel már számos tanulmány foglalkozott (Nostro et al., 2004; Bakkali et al., 2008).

2.3.3. *Közönséges szurokfű (Origanum vulgare L.)*

A kémiai- és aromatikus tulajdonságai miatt az *Origanum* nemzettségbe tartozó (Lamiaceae család) növényeket széles körben alkalmazzák a mezőgazdaságban, a gyógyszeriparban, a kozmetikai iparban, mint aro-

más gyógynövényeket. Emellett az élelmiszerekben, ízük, alkohol tartalmú italokban és illatszerekben pedig a fűszeres illatuk miatt hasznosítják. A népgyógyászatban a közönséges szurokfűvet/oregánót olyan betegségek kezelésére használták, mint légzőszervi rendellenességek, dyspepsia (emésztési problémák), izületi gyulladások, köhögés, illetve húgyúti betegségek (Paniagua-Zambrana et al., 2020).

Oregánó illóolajjal készült filmréteget használtak *Listeria innocua* (*L. innocua*), *St. aureus* és *S. Enteritidis* ellen különböző koncentrációkban (5, 10, 20, 40, 80 g/kg), a kísérlet során a legnagyobb gátlási zónát (37,50 mm) a *L. innocua* esetében mérték. Ezenkívül számos kutatás igazolta már, hogy az *E. coli O157:H7*, vagy *Pseudomonas* fajok ellen is jó hatékonysággal alkalmazható az illóolajat tartalmazó ehető filmréteg (Oussalah et al., 2004; Sřrensen et al., 2010; Kotsiou et al., 2010).

Az oregánó illóolaja, mely karvakrolt, *p*-cimolt, linalolt, α -terpinolt és terpinén-4-ol-t tartalmazott nagyobb mennyiségben, savófehérje-alapú ehető filmbe keverve szintén gátolhatja a *L. innocua*, *St. aureus*, *S. Enteritidis* és *Pseudomonas fragi* baktériumok növekedését. Az adott illékony vegyület kisebb koncentrációban is szélesspektrumú gátlást mutatott patogén és romlást okozó baktériumokkal szemben. Gündüz et al. (2012) kutatásaik alapján megállapították, hogy az oregánó illóolaja 500 ppm-es koncentrációban gátolhatja a *Salmonella* törzseket jégсалátában, azonban tíz perces kezelés után az illóolajnak köszönhetően a saláta levelei elkezdtek barnulni és lágyulni (Gündüz et al., 2012; Fernández-Pan et al., 2012; Özkan et al., 2017).

Az oregánó illóolaját és karvakrolt (0,67% és 0,067%) Friedman et al. (2007) gyümölcsök és zöldségek kezelésére használták, hogy megakadályozzák az *E. coli O157:H7* szerotípus növekedését. Alma esetében az

oregánóolaj alkalmazása jelentősen csökkentette a *Penicillium expansum* számát. Az alkalmazott illékony vegyületekkel szemben a *Listeria* nemzetség tagjai voltak a legérzékenyebbek, ellenük a leghatásosabbnak az oregánó, illetve a kakukkfű illóolaja bizonyult. Az átlagos illóolaj hatékonyság *Listeria* ellen a következő, csökkenő sorrendben: oregánó, kakukkfű, cirtomfű. A romlást okozó baktériumok esetében az alábbi illóolajok mutattak változó bioaktivitást: oregánó, kakukkfű, majoranna (Firdman et al., 2007; Lopez-Reyes et al., 2010).

Egyes kutatások szerint a karvakrol (0,3-0,5%), a kaprilsav (0,25-1,0%) és az ϵ -polilizin (0,125-1,0%) képesek csökkenteni a sült csirke-mellben lévő *Salmonella* sejtszámot. A pektintartalmú ehető filmek, melyek karvakrolt és transz-fahéjaldehidet tartalmaztak, *Listeria monocytogenes* esetében képesek voltak inaktiválni a baktériumsejteket sonkában és darált húspan is (Moschonas et al., 2012; Ravishankar et al., 2012).

További kutatások során az oregánó adagolása sertéskolbászokban már a legkisebb, azaz 1,15 mg/g koncentráció esetében is bakteriosztatikus hatást fejtett ki (Busatta et al., 2008). Ortega Morente et al. (2010) *E. coli* O157:H7, *Salmonella enterica*, *B. cereus* és *St. aureus* törzsekkel oltottak be karvakrol (0,5; 2,5%) tartalmú kukoricalisztból készült tésztát, melyben a karvakrol 24 óra alatt inaktiválta az összes baktériusejtet (Ortega Morente et al., 2010).

2.3.4. Rozmaring (*Rosmarinus officinalis* L.)

A rozmaring a Lamiaceae család tagja, örökzöld, évelő, aromás fűszernövény. A mediterrán régiókban őshonos, számos kemotípusa található meg természetve és vadon termő formában is (Giugnonini, 1985). A levelek, virágos csúcsok és a gallyak illóolajat és oleorezint tartalmaznak,

melyeket a hagyományos orvoslásban, a modern gyógyászatban, aromaterápiában, illatszeriparban, valamint az élelmiszeriparban is felhasználnak. A gyógyászatban antidepresszánsként, görcsoldóként, emmenagógusként, gyulladáscsökkentőként, májméregtelenítőként, valamint reumallenes, karminatív és abortív hatása miatt alkalmazzák (Plouzek et al., 1999). Általában a *Rosmarinus officinalis* L.-t használják illóolaj kinyerésére, de egyes országokban a *Rosmarinus eriocalyx* alkalmazása is elterjedt (Elamrani et al., 2000).

A rozmaring illóolajának összetevői közül nagyobb mennyiségben az 1,8-cineol (30–40%), a kámfor (15–25%), a borneol (16–20%), az α -pinén (25%), a bornil-acetát (maximum 7%) fordul elő, továbbá, β -pinén, linalool, kamfén, szubinén, mircén, limonén, p-cimol, terpinolén, terpinén-4-ol, metilkavikol, timol, kopalén is megtalálható benne (Prakasa Rao et al., 1999).

A rozmaring illóolaj összetételét számos tényező befolyásolja, mint a termesztés helye, az alap populáció, amelyből a növények származnak, valamint a növények fenológiája (Arnold et al., 1997; Boutekedjiret et al., 1999; Ouahada, 2000; Porte et al., 2000; Guazzi et al., 2001;).

A rozmaring illóolaját leginkább vízgőz desztillációval nyerik ki, de alkalmazhatnak még szuperkritikus folyadék extrakciót is (Coelho et al., 1997; Bicchi et al., 2000). A levelekből és a virágos szárvégekből nyert illóolaj jobb minőségű, mint a teljes növény feldolgozásával nyert illóolaj. Mindazonáltal a csak virágos szárból nyert illóolaj a legjobb minőségű. Az illóolaj, ha a teljes növényből nyerik, nagyobb kámfortartalommal bír. Az illóolaja a tiszta, áttetsző, de kissé sárgás színben is előfordul, illata erős és mentolos (Datiles és Acevedo-Rodríguez, 2022).

A rozmaringot az élelmiszeriparban széles körben alkalmazzák Európában és az Egyesült Államokban (Yanishlieva és Heinonen, 2001). Kiválóan alkalmas az úgynevezett újramelegítési íz (WOF, warmed over flavor) elnyomására (Valenzula és Nieto, 1996), valamint antioxidáns tulajdonsággal is rendelkezik. A növény kivonatai és illóolaja alkalmasak zsírok, olajok, zsír- és olajtartalmú élelmiszerek és vajak oxidációval, valamint avasodással szembeni stabilizálásra (Zegarska et al., 1996; Pokomy et al., 1998). A lipid peroxidációt csökkentheti húsból és halból készült élelmiszerek esetén, hűtött körülmények között, mely által a termékek minősége nem romlik (Wang et al., 2018). Ezáltal az élelmiszerek eltarthatóságát is képes növelni (Baj et al., 2018).

Jelentős antimikrobiális hatással rendelkezik, növeli a baktérium sejtek sejtmembránjának áteresztőképességét, mialatt deaktiválja a sejtlegzéshez köthető enzimrendszert (Witwit, 2018). A mozzarella sajt a rövid fogyaszthatósági idejű sajtféleségek közé tartozik nagy vízaktivitása miatt, mely 0,94. Rozmaring illóolajának hozzáadásával azonban gátolható azon mikrobák szaporodása, melyek a termék romlásért felelősek. Ezen kívül antimikrobás hatása van a sajtban a *L. monocytogenes*-szel szemben is, miközben semlegesíti a szabadgyököket és gátolja a lipid oxidációt (Witwit, 2018). Napjainkig a rozmaring illóolaját sikeresen alkalmazták kolbászok, hamburgerpogácsák, valamint csirkemell mikrobiológiai minőségének javítására, továbbá növelte a termékek fogyaszthatósági idejét. Ezen túlmenően az illó komponensek hozzáadása csökkentheti az aldehid képződését, mely elengedhetetlen a húsok hatékony tárolása esetén (Hijazeen és Rawashdeh, 2017).

Antioxidáns hatása, egyes kutatások szerint a nagy izoprenoid kinon tartalmának köszönhető (Wu, et al., 1982). Az izoprenoid kinonok az

élő szervezetek sejtmembránjaiban előforduló legfontosabb vegyületek közé tartoznak, melyek elektron- és protonhordozóként részt vesznek a fotoszintetikus és a sejtlégzéshez kapcsolódó transzport folyamatokban, továbbá antioxidáns tulajdonságokkal is rendelkeznek (Nowicka és Kruk, 2010). Ezen vegyületek a szabad gyökök képződésének láncát megtörik és kelátképzőként funkcionálnak a reaktív oxigén gyökök esetében. A reaktív oxigén gyökök könnyen lépnek reakcióba más molekulákkal a sejteken belül, ide tartozik a hidrogén-peroxid, szuperoxid anion és a hidroxil gyök (Bayir, 2005). A rozmaring fenolos vegyületei a lipid és hidroxil gyököt stabil termékké alakítják, továbbá ezen vegyületek fém ion kelátképzőként is működnek, melyek csökkentik a reaktív oxigénből származó gyökök képződését (Gordon, 1990; Fang és Wada 1993).

2.3.5. *Bazsalikom (Ocimum basilicum L.)*

A bazsalikom Dél-Afrikában, Amerikában, valamint Ázsiában őshonos növény, mely a Lamiaceae család tagja és több mint 150 faj tartozik közéjük (Kakaraparathi et al., 2015). Olyan évelő cserje, melynek illóolaja a gyógyszer-, parfüm- valamint az élelmiszeripar számára is értékes (Singh és Chaudhary, 2018). A növényből készült tea kiválóan alkalmas émelygés, puffadás, valamint vérhas tüneteinek enyhítésére (Özcan és Chalchat, 2002). A gyógyszergyártásban használják vizelethajtó és stimuláló hatása miatt (Baritoux és Richard, 1992). Továbbá a bazsalikom leveleit széles körben alkalmazzák íze miatt, szárítva és frissen, az ételekben ízesítőként, valamint illata miatt szobanövényként is népszerű (Filip et al., 2016).

Az illóolaja antibakteriális, gombaellenes, rovarriasztó, antioxidáns, rákellenes és gyulladáscsökkentő hatással rendelkezik. Ezek a hatások leginkább a növény linalool és fenolos komponenseinek köszönhető (Mahmoudi et al., 2020).

Az illó komponenseken kívül tartalmaz még fenolos vegyületeket, flavonoidokat, fenolsavakat, terpéneket, alkoholokat, aldehideket és fenilpropanoidokat is (Javanmardi et al., 2002; Ilic et al., 2019; Milenković et al., 2019). A legfontosabb antioxidáns hatású komponensei a rozmaringsav, a kávésav, a vanillin, a kvercetin, a rutin, az apigenin, a klorogénsav és a *p*-hidroxibenzoesav (Teofilović et al., 2017). A bazsalikom illóolájának hatóanyagai között megtalálható az α -pinén, a β -pinén, az esztragnol, az 1,8-cineol, a linalool, a ρ -cimol, a borneol, a geranil, a β -kariofillén, az eugenol és *n*-cinnamát (Taie et al., 2010).

A bazsalikom illóolaja antimikrobás hatással rendelkezik Gram-pozitív baktériumokkal szemben, mint a *B. cereus*, *St. aureus*, a *L. monocytogenes*, valamint a Gram-negatívak közül a *Salmonella* spp. és a *Pseudomonas aeruginosa* (Baldim et al., 2018).

Húsok esetében kiválóan használható tartósítószerként, antioxidáns hatása miatt. Darált marhahúshoz adagolva, 2 és 4%-ban, javította a hús színét és védte a lipideket az oxidációtól (Falowo et al., 2019). Falowo et al. (2019) kutatása alapján a 4%-nál kisebb koncentrációban alkalmazott bazsalikom illóolaj pozitívan befolyásolhatja a húskészítmények minőségét, azonban e fölötti koncentrációban nem hatékony. Ez is bizonyítja, hogy az alkalmazott illóolaj koncentrációnak megválasztása nagyon fontos feladat, mivel nagyobb dózisban adagolva éppen ellentétes hatást érhetünk el és prooxidánsként viselkedhetnek az egyes vegyületek (Mimica-Dukić et al., 2016).

Stanojevic et al. (2017) a bazsalikom hígítatlan illóolajának bioaktivitását két antibiotikummal, a gentamicinnel (5 µg/korong) és a ciprofloxacinnel (10 µg/korong) hasonlította össze kilenc mikroba esetén, míg a *Candida albicans* esetében metronidazolt (5µg/korong) használtak (3. táblázat). A metronidazol nem csak baktérium ellen használható, hanem gombaellenes hatással is rendelkezik (Kalonowska-Lis, et al., 2015). A vizsgált illóolajban a linalool (31,6%) és kavikol (23,8%) dominált. A *Providencia stuartii* ritka oportunistá kórokozó, mely egészségügyi ellátással összefüggő akut enterális fertőzést, húgyúti fertőzést, valamint tüdőt érintő betegségeket okoz (Abdallah, et al., 2018). Egyre jelentősebb baktérium, mivel az általa okozott megbetegedések száma nő, emellett Lin et al. (2017) által vizsgált mintákban kimutatott *Providencia stuartii* 84%-ban rezisztens volt ciprofloxacinre és 80%-ban gentamicinre.

3. táblázat: Antibiotikumok gátlási zónáinak összehasonlítása bazsalikom illóolajjal (forrás: Stanojevic et al (2017) nyomán)

mikroorganizmus	BEO (mm)	C (mm)	G (mm)	M (mm)
<i>Listeria monocytogenes</i>	14,0±0,2	30	26	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13,33±0,05	35	21,0	
<i>Escherichia coli</i>	29,33±0,1	33,33	25,66	
<i>Salmonella enterica</i>		25	25,0	
<i>Staphylococcus aureus</i>	15,66±0,1	21,66	30,0	
<i>Bacillus cereus</i>	9,66±0,3	27,33	23,0	
<i>Providencia stuartii</i>	35,0±0,1	0,0	5,0	
koagulázpozitív <i>Staphylococcus</i>	40,0±0,05	31,33	26,66	
<i>Streptococcus</i> D csoport	30,0±0,15	26,0	27,33	
<i>Salmonella spp.</i>	23,33±0,1	30,0	20	
<i>Candida albicans</i>	27,0±0,1			17,00

BEO: bazsalikom illóolaj, C: ciprofloxacin, G: gentamicin, M: metronidazol

Bazsalikom illóolaját nem csak termékhez adva lehet alkalmazni, hanem a termék felszínére permetezve is. Olasz típusú kolbászok esetében Saggiolato et al. (2009) többféle (0,5; 2,5; 10; 25; 50; 100 mg/mL) koncentrációban alkalmazott illóolajjal kezelte a kolbászok felszínét. A vizsgálat 28. napjáig a 100 mg/mL koncentráció esetében nem volt tapasztalható penészfejlődés a felületen, a többi esetben igen. Organoleptikus vizsgálatnak is alávetették a termékeket, 45 fő bevonásával, akik nem tapasztaltak szignifikáns különbséget a vizsgált minták között.

Gaio et al. (2015) szintén olasz típusú kolbászokat vontak be a vizsgálataikba, viszont ők hozzáadták a termékhez a bazsalikom illóolajat (0,19; 0,38; 0,75; 1,87; 3,75; 7,5 mg/g). Az alkalmazott illóolaj minden általuk vizsgált mikroorganizmusra gátló hatást fejtett ki, kivételt csak a *P. aeruginosa* képzett. A termék gyártásához Lycorani RHM 33 (Sacco, São Paulo, Brazília) starterkultúrát használtak, melyben *Pediococcus pentosaceus* és *Staphylococcus xylosum* volt, az illóolaj egyik koncentrációban sem gátolta ezen baktériumokat. Azonban a termék ízére a 0,75 mg/g-nál nagyobb koncentrációban hozzáadott illóolaj negatívan hatott (Gaio et al., 2015; [URL¹](#)).

3. 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 vizsgálathoz 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 lyukteszttel 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 rozmaryng voltak. A gyógynövényeket kereskedelmi forgalomból szereztük be. A szárított gyógynövények adagolt koncentrációjának meghatározása az előkísérletben már ismertetett koncentrációk alapján történt.

A mérések harmadik szakaszában az előbb felsorolt gyógynövények illóolajait adagoltuk a kolbázmintákhoz, azonos koncentrációkban.

Végeztünk kísérletet arra vonatkozóan is, hogy milyen hatása lenne a hozzáadott illóolajoknak rövid távon a sejtszámra, ha a termék az üzemen belül humán patogén baktériumok által fertőződne a gyártás, illetve a raktározás során. Ennek vizsgálatához a termékeket mesterséges úton ismert nagyságrendű patogén baktériumokkal fertőztük be, majd illóolajokat adagoltunk hozzájuk. Az egyik termék a már eddig is használt nyers kolbászmassza volt, míg a másik a májpástétom. Az illóolajoknak ezen kísérletek esetében meghatároztuk a minimális gátlási koncentrációkat, majd ezek közül kiválasztottuk a legkisebb koncentrációkat és adagoltuk a termékekhez.

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

3.1.1. Felhasznált alap- és segédanyagok

Az előkísérlethez felhasznált hús alapanyagot (5000 g) és a zsírszalonnát (2100 g) egy közeli húsüzemből vásároltuk, a felhasznált fűszerek kereskedelmi forgalomból származtak (Kotányi Hungária Kft., Törökbálint, Magyarország; Lacikonyha Magyarország Kft., Budapest, Magyarország).

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 (Böllérbolt, Kőrös József Károly EV., Pécs, Magyarország)

A termékek vákuumcsomagolására használt vákuumzacskókat a Gasztronauta Kft. (Győr, Magyarország) győri telephelyén vásároltuk.

3.1.2. Mikrobiológiai vizsgálatokhoz felhasznált táptalajok és vegyszerek, azok összetétele

A kísérletek során felhasznált táptalajok, kiegészítők mikrobiológiai tisztaságúak voltak.

Fiziológiás sóoldat (0,85%)	
Összetevő	Mennyiség (g/L)
Nátrium-klorid	8,50
Végső pH: 7,0 ± 0,2 (25 °C-on)	

Pufferelt Pepton Víz (BPW)	
Összetevő	Mennyiség (g/L)
kazein pepton	10
nátrium-klorid	5
dinátrium-hidrogén-foszfát	3,5
kálium-dihidrogén-foszfát	1,5
Végső pH: 7,0 ± 0,2 (25 °C-on)	

Baird-Parker agar (BPA)	
Összetevő	Mennyiség (g/L)
tripton	10
nátrium-piruvát	10
glicin	12
húskivonat	5
lítium-klorid	5
élesztőkivonat	1
agar	17
telluritos tojássárga emulzió	50
Végső pH: 7,0 ± 0,2 (25 °C-on)	

Tripton szója agar (TSA)	
Összetevő	Mennyiség (g/L)
kazein pepton	18
szója pepton	9
nátrium-klorid	9
agar	15
Végső pH: 7,0 ± 0,2 (25 °C-on)	

ChromoBio Coliform agar (CC)	
Összetevő	Mennyiség (g/L)
Peptonok	3,00
Triptofán	1,00
Szorbit	1,00
NaCl	5,00
Nátrium-piruvát	2,00
Kromogén szubsztrát	0,40
Tergitol 7	0,15
Pufferek	4,90
Agar	13,55

Végső pH: $6,8 \pm 0,2$ (25 °C-on)

Klóramfenikol élesztő glükóz agar (YGC)	
Összetevő	Mennyiség (g/L)
élesztőkivonat	5
D(+)-glükóz	20
klóramfenikol	0,1
agar	14,9

Végső pH: $7,2 \pm 0,2$ (25 °C-on)

Plate Count agar (TGE)	
Összetevő	Mennyiség (g/L)
peptonok	5
élesztőkivonat	2,5
glükóz	1
agar	15

Végső pH: $7,0 \pm 0,2$ (25 °C-on)

Tripton szulfít cikloszerin agar (TSC)	
Összetevő	Mennyiség (g/L)
triptóz	15,00
szója-pepton	5,00
élesztőkivonat	5,00
nátrium-biszulfít	1,00
mmónium vas(III)-citrát	1,00
agar	12,00

Végső pH: $7,6 \pm 0,2$ (25 °C-on)

Clostridium megerősítő tápleves (DRCM)	
Összetevő	Mennyiség (g/L)
húspepton	5
húskivonat	8
kazeinpepton	5
élesztőkivonat	1
glükóz	1
nátrium-diszulfid	0,5
ammónium-vas(III)-citrát	0,5
nátrium-acetát	5
cisztein-hidroklorid	0,5
keményítő	1
rezazurin	0,002
agar	15
Végő pH: 7,1 ± 0,2 (25 °C-on)	

Xilóz lizin dezoxikolát agar (XLD)	
Összetevő	Mennyiség (g/L)
laktóz	7,5
szukróz	7,5
nátrium-tioszulfát	6,8
L-lizin	5
nátrium-klorid	5
xilóz	3,75
élesztőkivonat	3
nátrium-dexoikolát	2,5
ammónium-ferrocitrát	0,8
fenolvörös	0,08
agar	15
Végő pH: 7,2 ± 0,2 (25 °C-on)	

Brillantzöld-fenolvörös-laktóz-szacharóz agar (BPLS)	
Összetevő	Mennyiség (g/L)
húspepton	10
húskivonat	5
élesztőkivonat	3
dinátrium-hidrogén-foszfát	1
nátrium-dihidrogén-difoszfát	0,6
laktóz	10

szukróz	10
fenolvörös	0,09
brillantzöld	0,0047
agar	12
Végső pH: 6,8 – 7,0 (37 °C-on)	

Rappaport-Vassiliadis tápleves (RVS)	
Összetevő	Mennyiség (g/L)
szójapepton	4,5
nátrium-klorid	7,2
kálium-dihidrogén-foszfát	1,26
bikálium-foszfát	0,18
magnézium-klorid	13,58
malachitzöld	0,036
Végső pH: 5,2 ± 0,2 (41 °C-on)	

Müller-Kauffmann Tetratonát Novobiocin tápleves (MKTTN)	
Összetevő	Mennyiség (g/L)
húspepton	4,3
kazein hidrolizátum	8,6
ökörepe	4,75
nátrium-klorid	2,6
kalcium-karbonát	38,7
nátrium-tioszulfát, pentahidrát	47,8
brillantzöld	0,0095
Végső pH: 8,2 ± 0,2 (20 °C-on)	

Mueller-Hinton agar	
Összetevő	Mennyiség (g/L)
savval hidrolizált kazein	17,5
marhahús kivonat	2
keményítő vízoldható	1,5
agar	17
Végső pH: 7,3 ± 0,2 (25 °C-on)	

3.1.3. Kísérletek során használt eszközök, berendezések

- lamináris box (Flowfast V18 P, Faster S.r.l., Cornaredo, Olaszország)
- steril petricsésze (Biolab Zrt, Budapest, Magyarország; Greiner Bio-One Hungary Kft., Mosonmagyaróvár, Magyarország)
- mintavevő csipesz
- szike, szikepenge
- termosztát (Binder, Tuttlingen, Németország)
- autokláv (Webeco, Bad Schwartau, Németország)
- precíziós táramérleg (Sartorius, Göttingen, Németország)
- kémcsőrázó (MS2 Minishaker, IKA Works Inc., Wilmington, Amerikai Egyesült Államok)
- rázókeverő (BagMixer 400, Interscience International, Saint Nom, Franciaország)
- húsipari kutter (Nagama VVB, Drezda, Németország)
- kézi töltőgép (Protok Ltd., Zágráb, Horvátország)
- sous vide főzőberendezés (Instanta, SV25, Instanta Ltd., Dereham, Egyesült Királyság)
- vákuumozó berendezés (Sammic, SV-310, Sammic, Azkoitia, Spanyolország)

3.1.4. Kolbász gyártástechnológiája

A nyers, darálón megfelelő szemcseméretűre ledarált sertéshúshoz (5000 g) és a hozzákevert darált zsírszalonnához (2100 g) az előre kidolgozott recept alapján (4. táblázat) hozzáadtuk a fűszereket: édes, darált piros paprika, 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 (Böllérbolt, Körös József Károly EV., Pécs, Magyarország) töltöttük, majd vákuumcsomagoltuk 150x200 mm-es vákuumtasakokba (1. ábra) (Gasztronauta Kft., Győr, Magyarország).



1. **ábra:** A vákuumcsomagolt, adalékolt kolbászok (forrás: saját kép)

A termékgyártás folyamata során a hűtési lánc folyamatossága és a mikrobiológiai kritériumok teljesülése érdekében ügyeltünk arra, hogy a termékek maghőmérséklete ne haladja meg a +5 °C-ot, továbbá a vizsgálatokig a terméket +4±1 °C-on hűtőben tároltuk.

4. táblázat: Összefoglaló táblázat a kolbász összetételéről

összetevő	mennyiség (g)
<i>sertéscomb</i>	700
<i>sertés zsírszalonna</i>	300
<i>őrölt pirospaprika</i>	20
<i>só</i>	20
<i>fekete bors</i>	4
<i>fehér bors</i>	2
<i>őrölt kömény</i>	4
<i>szerecsendió</i>	1
<i>fokhagyma</i>	15

3.1.5. Kolbázminták mikrobiológiai vizsgálatának menete

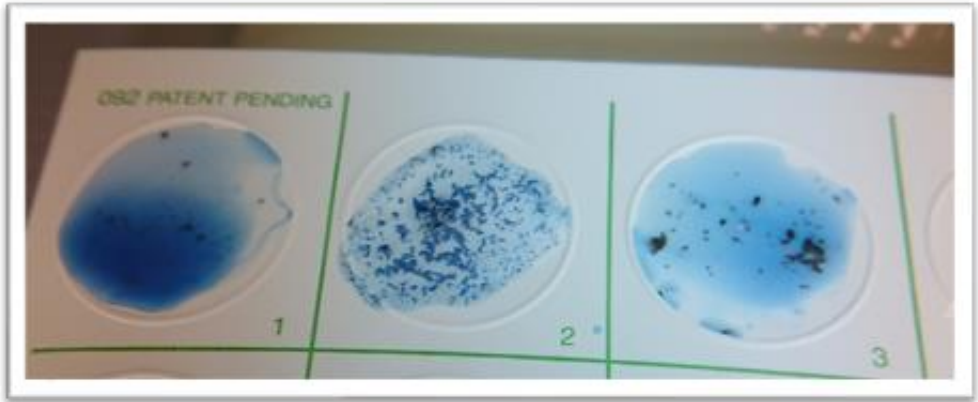
A terméket (2. ábra) a 0., 7., 14. napon vizsgáltuk. Egy vákuumcsomagolt, nyers kolbász nagyjából 14–21 napig őrzi meg a fogyaszthatósági idejét, a mikrobiológiai aktivitás, valamint a még aktív enzimeknek köszönhetően.



2. ábra: Száritott kakukkfűvel kiegészített kolbászminta
(forrás: saját kép)

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

St. aureus vizsgálatát Baird-Parker (Biolab Kft., Budapest, Magyarország), tojássárga-tellurit (Biolab Kft., Budapest, Magyarország) emulzióval kiegészített táptalajon végeztük 37 °C-on, 24–48 órán át. Megerősítése Staphylect plus (3. ábra) (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, Amerikai Egyesült Államok) teszttel történt.



3. ábra: *Staphylococcus aureus* megerősítése (1: kolbász minta; 2: pozitív kontroll; 3: negatív kontroll; forrás: saját kép)

Az élesztő és penész vizsgálatát Élesztő Glükóz Klóramfenikol (YGC, Biolab Kft., Budapest, Magyarország) agaron végeztük, 25 °C-on, melyet 120 óra után értékeltük ki az élesztő és penésztelepek külön történő leszámolásával.

Cl. perfringens esetében Tryptose Szulfít Cycloserine (TSC, Biolab Kft., Budapest, Magyarország) agart használtunk, 37 °C-on, 24 órán át, majd DRCM táplevessel (Biolab Kft, Budapest, Magyarország) erősítettük meg 37 °C-on történő 44–48 órás inkubálás után.

Kóliform és *E. coli* vizsgálatát ChromoCult Coliform (CC, Biolab Kft., Budapest, Magyarország) agaron végeztük, 37 °C-on, 48 óra után értékeltük ki. Az *E. coli* megerősítése Kovács-féle indol reagenssel történt (4. ábra) (Biolab Kft., Budapest, Magyarország).



4. ábra: Vizsgálatokhoz használt *E. coli* pozitív kontroll törzs megerősítése (forrás: saját kép)

Az összes telepképző egység szám vizsgálata Plate Count (PC, Biolab Kft., Budapest, Magyarország) agarral történt, a lemezeket 30 °C-on, 72 óra után értékeltük ki.

A *Salmonella*-t elsőként Pufferolt Peptonvízben (Biolab Kft., Budapest, Magyarország) dúsítottuk 37 °C-on, 24 óra után szelektív Rappaport-Vassiliadis (RV, Biolab Kft., Budapest, Magyarország) táplevesbe pipettáztunk 0,1 mL-t, inkubáltuk 24 órán át, 41 °C-on. Az RV mellett Müllerkauffmann szelektív táplevesbe (MKTTN, Biolab Kft., Budapest, Magyarország) 1 mL-t pipettáztunk, majd inkubáltuk 24 órát, 37 °C-on. Végül Xilóz Lizin Dezoxikolát (XLD, Biolab Kft., Budapest, Magyarország) és

Brillantzöld-fenolvörös-laktóz-szacharóz agaron szelektíven tenyésztettük 24 órán át, 37 °C-on. A megerősítés *Salmonella* savókkal történt (O-, Vi-, H-savó, Biolab Kft., Budapest, Magyarország).

5. táblázat: Alkalmazott módszerek szabványai

Összes mikroba-szám, lemezöntés	MSZ EN ISO 4833-1:2014	Összes mikrobaszám meghatározása élelmiszerből
Élesztő- és penészgomba szám, lemezöntés	MSZ ISO 7954:1999 (vissza vont szabvány)	Összes élesztő és penészgomba szám meghatározása élelmiszerből
<i>Escherichia coli</i> szám, lemezöntés	ISO 16649-2:2005	Összes <i>E. coli</i> meghatározása élelmiszerből
Kóliform szám, lemezöntés	ISO 4832:2006	Összes kóliform meghatározása élelmiszerből
<i>Clostridium perfringens</i> szám, lemezöntés	MSZ EN ISO 7937:2005	Összes <i>Clostridium perfringens</i> szám meghatározása élelmiszerből
<i>Salmonella</i> fajok száma	MSZ EN ISO 6579:2017	Összes salmonella faj meghatározása élelmiszerből
Koaguláz-pozitív <i>Staphylococcus</i> szám, felületi szelésztés	MSZ EN ISO 6888-1:2021	Összes koaguláz-pozitív <i>Staphylococcus</i> szám meghatározása élelmiszerből

3.1.6. 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 kivonószert: mintatömeg arányban, 4 órán át, 40 °C-os rázóvízfürdőben kell extrahálni.



5. ábra: Alkoholos zsályakivonat bepárlása (forrás: saját kép)

A szűrés után 78 °C-on tömegállandóságig kell bepárolni (5. ábra) az extraktumot, hogy az alkohol elillanjon. A kivonatot $+4\pm 1$ °C-os hűtőben tároltuk a gátlóhatás vizsgálat elvégzéséig.

3.1.7. Agardiffúziós lyukteszt

A módszert 1940-ben dolgozták ki, lényege, hogy a vizsgálandó anyagból vizes 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 gátlás koncentrációfüggő, minél nagyobb a koncentráció, annál nagyobb a gátlási zóna (Balouiri et al., 2015).

A zsálya kivonatát *Salmonella*, *E. coli*, *S. aureus* és *Enterococcus faecium* baktériumokkal vizsgáltuk, Tripton Szója Agaron (TSA, Biolab Kft., Budapest, Magyarország) 24 óra után, 37°C-on. Az inkubálási idő letelte után megmértük a kialakult gátlási zónákat.

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

3.2.1. Felhasznált alap- és segédanyagok

A további kísérletekhez a sütőkolbászmasszát előre bekeverve vásároltuk [sertéshús 65%, ipari szalonna, víz, étkezési só, fűszerek (csemege paprika, fekete bors, csípős paprika, fokhagyma, fűszerkömény), sertés vékonybél], mivel az ipari körülmények között előforduló mikroflorát szeretnénk volna a vizsgálatok alapjául venni. A vizsgálatok elvégzéséig a termékeket $+4\pm 1$ °C-on hűtőben tároltuk.

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

3.2.2. Mikrobiológiai vizsgálatokhoz felhasznált táptalajok és vegyszerek

A 3.1.2. sorszámú fejezetben ismertetett anyagokat használtuk e kísérletek során is.

3.2.3. Kísérletek során használt eszközök, berendezések

A 3.1.3. sorszámú fejezetben ismertetett eszközöket használtuk a kísérletek során.

3.2.4. Kolbászminták mikrobiológiai vizsgálatának menete

A 3.1.4. 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. A vizsgálatot kiegészítettük a 21. nappal.

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

3.3.1. Felhasznált alap- és segédanyagok

A további kísérletekhez a sütőkolbászmasszát előre bekeverve vásároltuk, mivel az ipari körülmények között előforduló mikroflorát 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 (6. táblázat). Az illóolajok Food Grade minőségűek, 100% tisztaságúak voltak.

6. táblázat: Kísérlethez használt illóolajok összetétele, fő tulajdonságai
(forrás: saját szerkesztés)

Gyógynövény	Család	Begyűjtés országa	Felhasznált növényi rész	Fő hatóanyag	Beszerzés helye
<i>Salvia officinalis</i> L.	Lamiaceae	Albánia	virág	α -tujon, kámfor, limonén, β -tujon	NHR Organic Oils Ltd.
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Lamiaceae	Tunézia	virág	1,8-cineol, α -pinén, kámfor, β -pinén	(Egyesült Királyság)
<i>Origanum vulgare</i> L.	Lamiaceae	Magyarország	virág és levél	karvakrol, p -cimol, γ -terpinén	
<i>Ocimum basilicum</i> L.	Lamiaceae	Magyarország	levél	linalool, 1,8-cineol, eugenol	NSH Organics Ltd. (Magyarország)
<i>Thymus vulgaris</i> L.	Lamiaceae	n.a.	n.a.	thimol, p -cimol, γ -terpinén, karvakrol, linalool	

n.a.: nincs adat

3.3.2. Mikrobiológiai vizsgálatokhoz felhasznált táptalajok és vegyszerek

A 3.1.2. sorszámú fejezetben ismertetett anyagokat használtuk e kísérletek során is.

3.3.3. Kísérletek során használt eszközök, berendezések

A 3.1.3. sorszámú fejezetben ismertetett eszközöket használtuk a kísérletek során.

3.3.4. Kolbásminták mikrobiológiai vizsgálatának menete

A 3.1.4. sorszámú fejezetben ismertetett módszerek alapján vizsgáltuk a választott kakukkfű, orvosi zsálya, rozmaring, bazsalikom, oregánó illóolajával 0,5%, 1%, 1,5% és 2%-ban kiegészített kolbásmintákat. A kontroll minta nem tartalmazott illóolajat.

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

3.4.1. Felhasznált alap- és segédanyagok

A további kísérletekhez a sütőkolbászmasszát előre bekeverve vásároltuk, mivel az ipari körülmények között előforduló mikroflorát szeretettük volna a vizsgálatok alapjául venni. A vizsgálatokig a termékeket $+4\pm 1$ °C-on hűtőben tároltuk.

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

3.4.2. Mikrobiológiai vizsgálatokhoz felhasznált táptalajok és vegyszerek

A 3.1.2. sorszámú fejezetben ismertetett anyagokat használtuk e kísérletek során is.

3.4.3. Kísérletek során használt eszközök, berendezések

A 3.1.3. sorszámú fejezetben ismertetett eszközöket használtuk a kísérletek során.

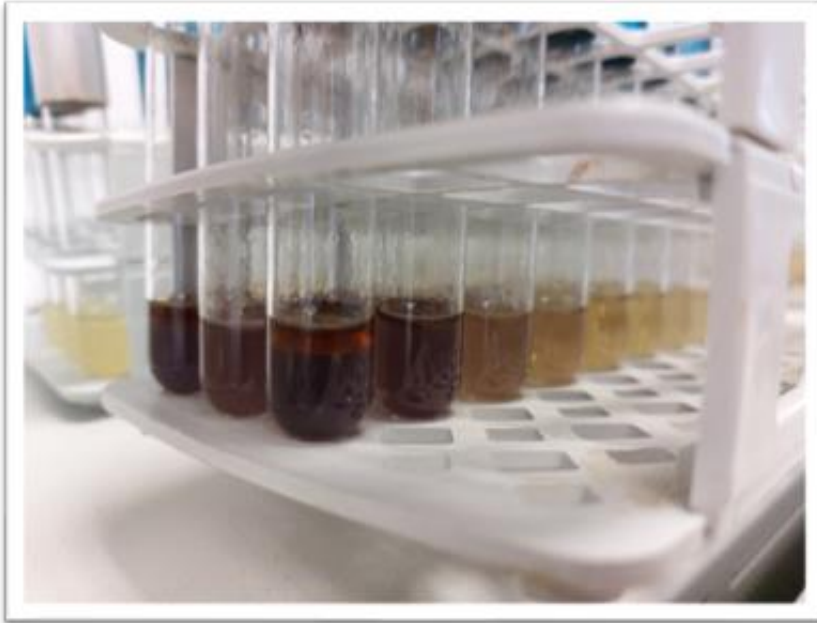
3.4.4. Vizsgálatokhoz felhasznált baktériumtörzsek, valamint az illóolajok minimális gátlási koncentrációjának (MIC) meghatározása

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 tenyészzel fertőzzük be a mintákat.

Az illóolajok MIC-értékét (Minimal Inhibitory Concentration) a Klinikai és Laboratóriumi Szabványügyi Intézet iránymutatásai (CLSI, 2012) által ajánlott makrodilúciós módszerrel határoztuk meg. Az illóolajokat 5%-os dimetil-szulfoxid-oldatban (Molar Chemicals, Halásztelek, Magyarország) oldottuk fel, amely 0,1% TWEEN-80 (Biolab Zrt, Budapest, Magyarország) oldatot tartalmazott (Cazella et al., 2019), majd felező hígítással Mueller-Hinton táplevesben (Biolab Zrt, Budapest, Magyarország) pipettáztuk, hogy 0,39-200 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 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 sejtszámát McFarland denzitométerrel (Grant Instruments Ltd., Cambridge, Egyesült Királyság) állítottuk be 5×10^5 TKE/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 csöbe és további 1 órán

át inkubáltuk 37 °C-on. A MIC-et az illóolaj azon legalacsonyabb koncentrációjaként határoztuk meg, melynél a csövekben nem észleltünk színváltozást, azaz látható baktériumaktivitást.



6. ábra: A MIC meghatározása, az inkubálás előtti állapot
(forrás: saját kép)

3.4.5. Befertőzött kolbászminták mikrobiológiai vizsgálata

A mikrobiológiai vizsgálatához 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 kontrolltermékek csak baktériumszuszpenziót tartalmaztak, illóolajat nem. A mintákból steril szikével 10 g-ot vettünk, majd ezekhez 90 mL steril sóoldatot (0,85%) mértünk és homogenizáltuk Stomacher 400

Circulator (Seward, Worthing, UK) rázókeverő segítségével. A minták sorozatosan 10^{-6} -ig hígítottuk és 0,1 mL-t pipettáztunk a TSA (Biolab Zrt., Budapest, Magyarország) 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.

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

3.5.1. Felhasznált alap- és segédanyagok

A kísérlethez felhasznált sertésmájat, illetve sertézsírt kereskedelmi forgalomban vásároltuk. A felhasznált illóolajok a 3.1.1. fejezetben ismertetett illóolajok voltak.

3.5.2. Mikrobiológiai vizsgálatokhoz felhasznált táptalajok és vegyszerek

A 3.1.2. sorszámú fejezetben ismertetett anyagokat használtuk a kísérletek során is.

3.5.3. Kísérletek során használt eszközök, berendezések

A 3.1.3. sorszámú fejezetben ismertetett eszközöket használtuk a kísérletek során.

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

A 3.4.4. fejezetben ismertetettek alapján történt a vizsgálat.

3.5.5 Májpástétom gyártástechnológiája

Májpástétom előállításánál az alapanyagokat először hőkezelnünk szükséges. A hőkezelés előtt eltávolítottuk a kötőszövetet és a zsírszövetet a máj felszínéről. Hőkezelés során a máj maghőmérséklete $81\text{ }^{\circ}\text{C}$ felett volt 60 perces hűtőtartás mellett. A hőkezelésre részben azért van szükség, hogy a termék későbbi főzésekor fellépő főzési veszteséget csökkentjük. 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 kenhető állományú termékek esetében fontos az emulgeálási folyamat, mivel, ha nem stabil rendszer jön létre, a termék fázisai szétválhatnak. Ez esetünkben a szuszpenzió, illetve az illóolaj elkeverését akadályozná. Az illóolaj a termék zsírfázisában oldódik. A májasok esetében az emulgeáló szerepét a máj adja, melyet úgynevezett hólyagosra kell aprítani, ekkor a fehérjék oldatba kerülnek. Hőkezeléskor a fehérjeháló koagulálódik és denaturálódik, így nem történik zsírkiválás. Stabil emulziót magasabb hőmérsékleten kaphatunk, $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ felett, ezért melegen történik a termék aprítása és keverése. A kutterbe (Nagema VVB, Drezda, Németország) először a főtt májat (5000 g, 75%), majd a főtt hasa szalonnát (1675 g, 25%) adagoltuk és addig aprítottuk és kevertük, míg egyöntetű pépet kaptunk.

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

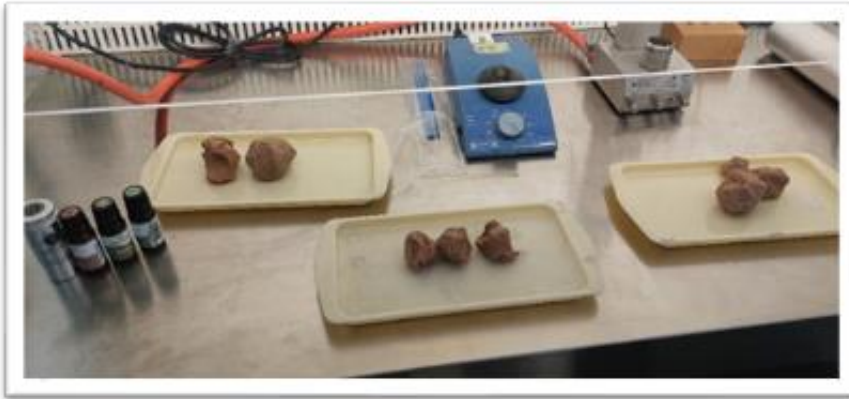
A terméket kollagén műbélbe (Böllér-Ker Kft., Pápa, Magyarország) töltöttük, majd 81 °C-os maghőre főztük, 60 perces hõntartással. A hõkezelés után jeges vízben hûtöttük le 6 °C alá. A befertõzés és a letoltások elvégzéséig a termékeket hûtõben, 4 °C-on tároltuk.

3.5.6. Májpástétomok befertõzése, illetve mikrobiológiai vizsgálatának menete

A kontrollpástétomokat a befertõzés elõtt a 4/1998-as Egészségügyi Minisztérium rendelete alapján *St. aureus*, *Cl. perfringens*, *E. faecalis*, *Salmonella* spp, *E. coli*, kóliformok, valamint összes telepkepzõ 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 mennyiségû baktériumsejtet tartalmazzon. A szuszpenziók steril vízbõl (121 °C, 15 perc) készültek, kizárólag a hozzáadott baktériumokat tartalmazták. A szuszpenziókat ellenõrzésképpen kioltottuk lemezöntéses módszerrel Mueller-Hinton agarra (Biolab Zrt, Budapest, Magyarország), majd 24 óra múlva leszámoltuk az értékelésbe bevonható lemezeket.

A termékek befertõzését lamináris box alatt végeztük (7. ábra), az elõre kimért pástétomokhoz elõször az elõre meghatározott illóolaj mennyiségeket pipettáztuk, majd egynemûsítettük. A megfelelõ egyöntetû elkeverés után adtuk hozzá a baktériumszuszpenziókat a májpástétommintákhoz, 75 g mintához 1 mL szuszpenziót, ezáltal értük el a 10^5 TKE/g kiindulási sejtszámot.



7. **ábra:** A májpástétom minták az illóolajjal való kiegészítése
(forrás: saját kép)

3.6. 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 statisztikai vizsgálat során az adalékolt minták eredményeit hasonlítottuk a kontroll mintához. Zárójelben az értékek után lévő p érték a kétmintás t-próba során kapott kétszélű p érték, mely 0,05 érték alatt szignifikáns különbséget jelent.

A vizsgálatok során végzett méréseket három párhuzamosban végeztük. A vizsgálatok során kapott eredmények $\text{átlag} \pm \text{szórás}$ formában adtuk meg.

4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

4.1. Előkísérlet, zsályával kiegészített kolbászmintákkal

Az előkísérletek során, szárított zsályát tartalmazó kolbász a mikrobiológiai vizsgálatok a termékgyártás napján (0. nap) valamint a 7. és 14. napon történtek.

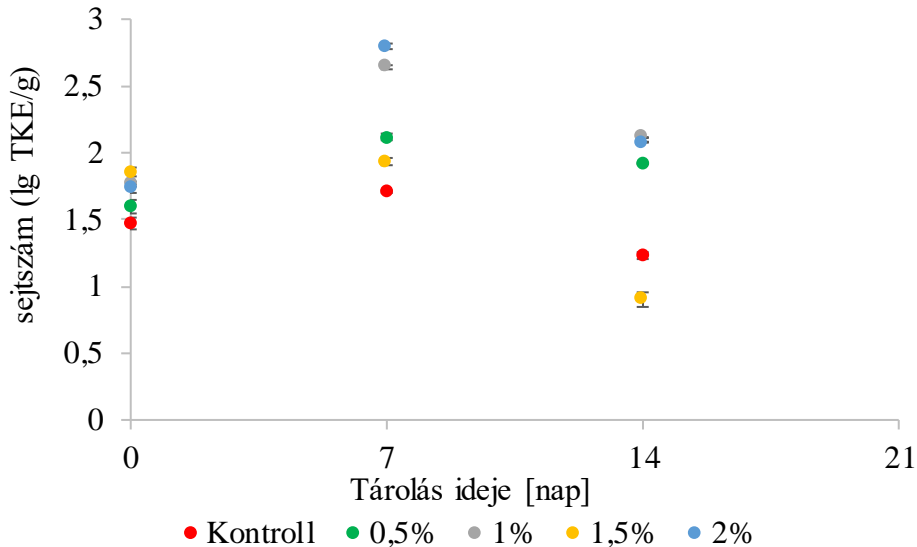
Habár az első és az utolsó leoltáskor nem találtunk jellegzetes *Cl. perfringens* telepeket a mintákban, a 7. napon a baktérium szaporodását a kontroll, a 0,5%-os és 1%-os mintákban figyeltük meg.

A *S. aureus* esetében a táptalaj felszínén atipikus telepeket találtunk, melyek a megerősítő vizsgálatot nem adták.

A minták közül az első leoltáskor mindegyik pozitív volt *Salmonella*-ra. A 7. napon a kontroll, a 0,5%-os és az 1,5%-os maradt pozitív, a többi mintában nem mutattuk ki. A 14. napon a kontroll és a 0,5%-os minták voltak pozitívak.

A leoltások előrehaladtával a mintákban lévő *E. coli* szám a 7. napig nőtt, majd a 14. napra csökkenést tapasztaltunk (8. ábra). Az első leoltáskor, az 1,5%-os mintának volt a legnagyobb a sejtszáma, $1,85 \pm 0,03$ lg TKE/g. A 7. napra a 2%-os minta esetén tapasztaltunk a legnagyobb növekedést, az $1,73 \pm 0,03$ lg TKE/g sejtszámról, $2,79 \pm 0,02$ lg TKE/g sejtszámra. A kontroll mintában nőtt legkevésbé a sejtszám, az $1,47 \pm 0,04$ lg TKE/g sejtszámról, $1,71 \pm 0,01$ lg TKE/g sejtszámra. A 14. napra minden esetben csökkenést tapasztaltunk, a legnagyobbat az 1,5%-os minta esetén, a legkisebbet a 0,5%-os minta esetén. Az első leoltáskor a kontroll mintát az adalékolt mintákkal összehasonlítva az 1%-os ($p=0,002$), az 1,5%-os ($p<0,000$) és a 2%-os ($p=0,027$) minták között volt szignifikáns a különbség. A második leoltáskor minden esetben szignifikáns volt a különbség a

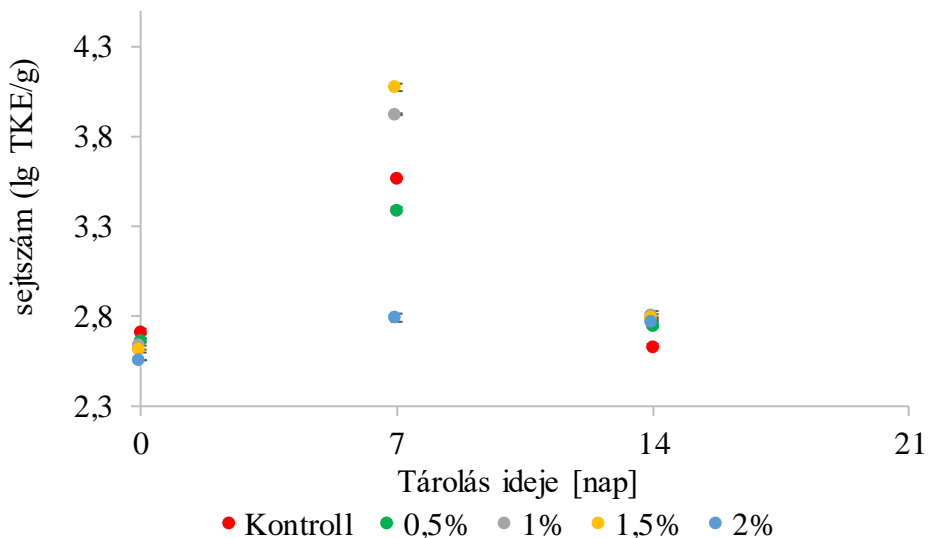
kontroll és a szárított zsályát tartalmazó minták között ($p_{K-0,5\%}=0,002$; $p_{K-1\%}<0,000$; $p_{K-1,5\%}=0,007$; $p_{K-2\%}<0,000$) mely elmondható a harmadik, 14. napos leoltásról is ($p_{K-0,5\%}<0,000$; $p_{K-1\%}<0,000$; $p_{K-1,5\%}=0,019$; $p_{K-2\%}<0,000$).



8. ábra: *E. coli* sejtszám változások zsályával kiegészített kolbász-mintákban

Kóliform esetén (9. ábra) a kiindulási sejtszámok közel megegyeztek az első leoltáskor, a legnagyobb a kontroll mintában volt, $2,71\pm 0,01$ lg TKE/g, a legkisebb 2%-os mintában, $2,55\pm 0,00$ lg TKE/g. A 7. napra minden esetben nőttek a sejtszámok, a legkisebb mértékben a 2%-os mintában, $2,79\pm 0,00$ lg TKE/g-ra. A legnagyobb növekedést az 1,5%-os minta esetén tapasztaltuk, a kiindulási $2,62\pm 0,02$ lg TKE/g sejtszámról, $4,07\pm 0,02$ lg TKE/g sejtszámra. A 14. napra minden minta esetén csökkent a sejtszám, a legkevésbé a 2%-os mintában, $2,77\pm 0,01$ lg TKE/g értékre. A legnagyobb csökkenést az 1,5%-os mintában tapasztaltuk, $2,799\pm 0,01$ lg TKE/g értékre. Az első leoltáskor a kontroll és minden adalékolt minta között

szignifikáns különbséget találtunk ($p_{K-0,5\%}=0,048$; $p_{K-1\%}=0,037$; $p_{K-1,5\%}=0,031$; $p_{K-2\%}=0,002$). Ez a második leoltás esetén is elmondható, a kontroll mintához viszonyítva minden esetben szignifikáns volt a különbség ($p_{K-0,5\%}=0,001$; $p_{K-1\%}<0,000$; $p_{K-1,5\%}<0,000$; $p_{K-2\%}<0,000$). Továbbá a harmadik leoltáskor is szignifikáns különbségeket tapasztaltunk a kontroll és kiegészített minták között ($p_{K-0,5\%}=0,017$; $p_{K-1\%}=0,007$; $p_{K-1,5\%}=0,005$; $p_{K-2\%}<0,000$).



9. ábra: Kóliform sejtszámok a szárított zsályával kiegészített mintákban

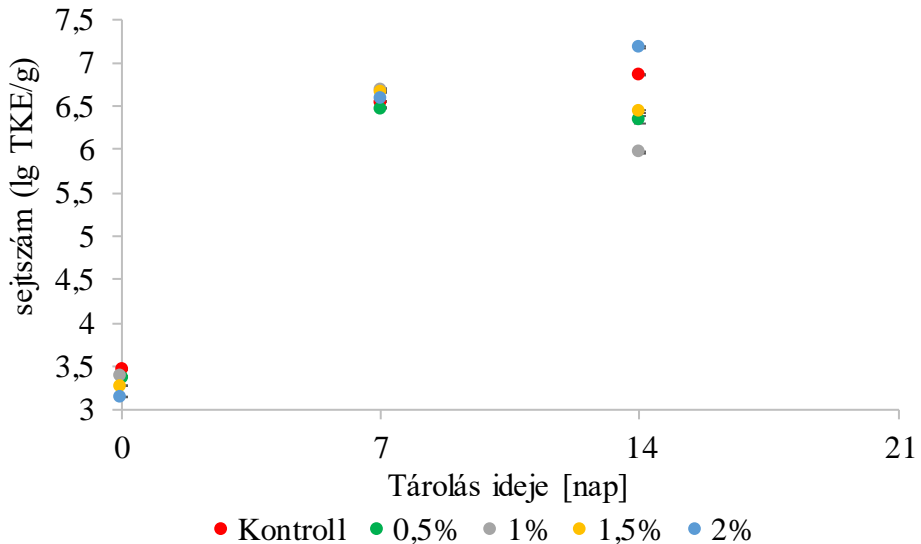
Az első leoltáskor a kontroll minta nem tartalmazott élesztőgombákat, a többi minta igen. A 2%-os mintának volt a legnagyobb a kiindulási sejtszáma, $2,76\pm 0,02$ lg TKE/g, míg a legkisebb az 1,5%-os mintának volt, $2,51\pm 0,03$ lg TKE/g. A 7. napra a kontroll mintában is mutattunk ki élesztőt, $2,49\pm 0,00$ lg TKE/g sejtszámmal. A többi mintában csökkent a 7. napra az élesztők mennyisége. A 14. napon nem mutattunk ki egyik mintában sem élesztőt. Az első leoltáskor a kontroll mintához hasonlóan az

adalékolt minták sejtszámait, minden esetben szignifikáns különbséget találtunk ($p_{K-0,5\%}<0,000$; $p_{K-1\%}<0,000$; $p_{K-1,5\%}<0,000$; $p_{K-2\%}<0,000$). A 7. napon a kontrollhoz hasonlóan a szárított zsályát tartalmazó mintákat is szignifikáns különbségeket találtunk ($p_{K-0,5\%}=0,034$; $p_{K-1\%}<0,000$; $p_{K-1,5\%}=0,029$; $p_{K-2\%}<0,000$).

Penész esetén a legnagyobb kiindulási sejtszámmal a kontroll minta rendelkezett, $2,77\pm 0,01$ lg TKE/g, míg a legkisebb sejtszámmal az 1,5%-os minta, $2,36\pm 0,01$ lg TKE/g. A 7. napra minden minta esetén csökkent a sejtszám, a kontroll esetén $2,38\pm 0,00$ lg TKE/g-ra, a 0,5%-os minta esetén a $2,45\pm 0,02$ lg TKE/g értékről, $2,19\pm 0,02$ lg TKE/g-ra, az 1%-os minta esetén a $2,36\pm 0,01$ lg TKE/g-ról, $2,11\pm 0,00$ lg TKE/g-ra, az 1,5%-os minta esetén $2,37\pm 0,01$ lg TKE/g sejtszámról, $2,20\pm 0,02$ lg TKE/g értékre, illetve a 2%-os minta esetén a $2,65\pm 0,00$ lg TKE/g értékről, $2,18\pm 0,02$ lg TKE/g értékre. A 14. napon nem mutattunk ki egyik mintában sem penészt. Az első leoltáskor a kontroll és minden adalékolt minta esetén szignifikáns különbséget találtunk ($p_{K-0,5\%}<0,000$; $p_{K-1\%}<0,000$; $p_{K-1,5\%}=0,002$; $p_{K-2\%}=0,004$). A második leoltáskor is megfigyelhető volt ez a szignifikáns különbség a kontroll és adalékolt minták között ($p_{K-0,5\%}=0,004$; $p_{K-1\%}<0,000$; $p_{K-1,5\%}=0,005$; $p_{K-2\%}=0,003$).

Összes telepkepző szám esetén az első leoltáskor a kontroll minta kiindulási sejtszáma volt a legnagyobb, $3,47\pm 0,01$ lg TKE/g, míg a legkisebb a 2%-os mintáé, $3,14\pm 0,00$ lg TKE/g. A sejtszámok a 7. napra ugrászerűen nőttek (10. ábra), a kontroll esetén $6,55\pm 0,00$ lg TKE/g-ra, a 0,5%-os minta esetén a $3,38\pm 0,01$ lg TKE/g értékről, $6,48\pm 0,01$ lg TKE/g-ra, az 1%-os minta esetén a $3,38\pm 0,01$ lg TKE/g-ról, $6,70\pm 0,01$ lg TKE/g-ra, az 1,5%-os minta esetén $3,28\pm 0,00$ lg TKE/g sejtszámról, $6,66\pm 0,01$ lg TKE/g értékre, illetve a 2%-os minta esetén a $3,14\pm 0,01$ lg TKE/g értékről,

6,59±0,01 lg TKE/g értékre. A 14. napra a 0,5%-os (6,34±0,04 lg TKE/g), az 1%-os (5,96±0,01 lg TKE/g) és az 1,5%-os (6,44±0,02 lg TKE/g) minták esetén csökkent a sejtszám, míg a kontroll (6,86±0,01 lg TKE/g) és a 2%-os (7,18±0,02 lg TKE/g) minták esetén tovább nőtt. Az első leoltáskor szignifikáns különbséget figyeltünk meg minden kontroll minta sejtszámához viszonyított esetben ($p_{K-0,5\%}<0,000$; $p_{K-1\%}<0,000$; $p_{K-1,5\%}<0,000$; $p_{K-2\%}<0,000$). A 7. napon minden kontrollhoz hasonlított minta esetén szignifikáns különbséget tapasztaltunk ($p_{K-0,5\%}=0,003$; $p_{K-1\%}=0,002$; $p_{K-1,5\%}=0,003$; $p_{K-2\%}=0,034$). A harmadik leoltáskor is minden vizsgált esetben szignifikáns volt a különbség ($p_{K-0,5\%}=0,003$; $p_{K-1\%}<0,000$; $p_{K-1,5\%}<0,000$; $p_{K-2\%}<0,000$).

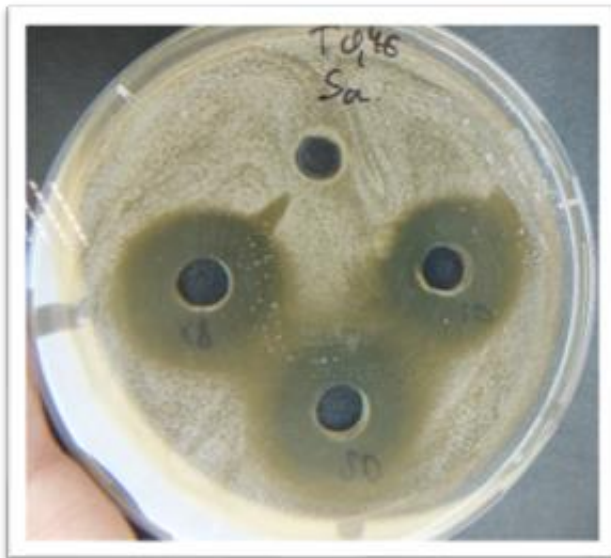


10. ábra: Az előkísérlet során kapott összes telepképző egység számának változása

4.1.1. Gátlóhatás vizsgálata

A zsályával végzett előkísérletek után, olyan méréseket végeztünk el, amely során a zsályakivonat gátló hatását vizsgáltuk különböző mikroorganizmusokra.

Az általunk készített zsályakivonatot hígítatlanul juttattuk a TSA lemezekbe előzőleg kifűrt lyukakba. Az *E. coli*-n kívül mindhárom baktérium esetén tapasztalható volt a gátlóhatás, a legerősebb a *Salmonella* esetében volt megfigyelhető, míg a legtisztább gátlási zónát a *S. aureus* esetében figyeltük meg. Az *E. faecium* esetében a gátlási zóna átlagos átmérője $7,7\pm 1$ mm volt, *Salmonella* esetében $20,3\pm 0,7$ mm (11. ábra), míg *S. aureus* esetében 10 ± 0 mm.



11. ábra: A kivonat *Salmonella*-ára gyakorolt gátlása

4.2. Szárított gyógnövényekkel végzett vizsgálatok eredményei

4.2.1. Szárított zsályával kiegészített kolbász mikrobiológiai vizsgálat eredményei

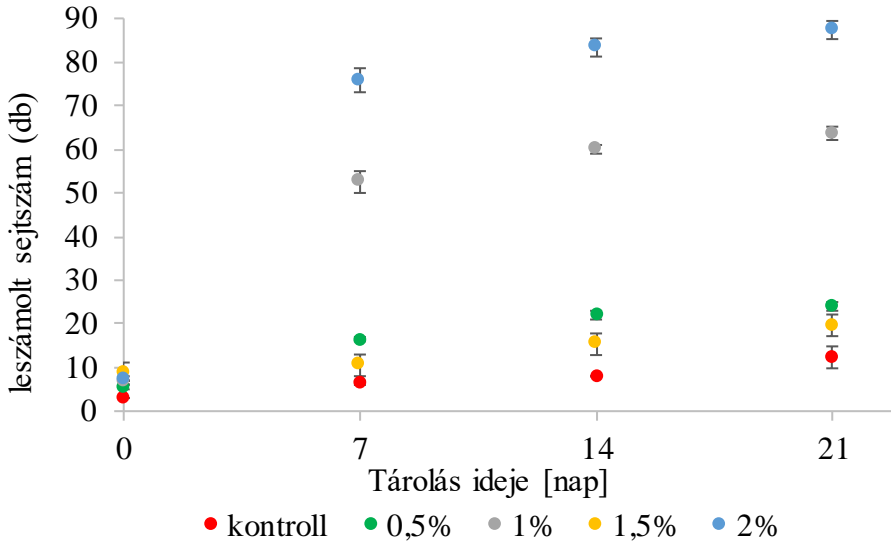
A bolti zsályát tartalmazó kolbászban nem találtunk tipikus *C. perfringens* telepeket egyik leoltás esetében sem.

A *S. aureus* esetében a kiértékelés során találtunk fekete telepeket, de ezek nem adták tipikusan *S. aureus*-ok minden jellemző jegyeit, úgymint a fényes, fekete telep, feltisztult zónával a telepek körül. Hogy megbizonyosodjunk, valóban nem *S. aureus* jelenlétét mutatják a kifejlődött telepek, végeztünk megerősítő vizsgálatot is, Staphylect Plus (Thermo Fisher Scientific Inc, Waltham, Egyesült Államok) segítségével. A teszt során nem tapasztaltuk a várt kék, pelyhes kicsapódást, így a fekete telepeket nem *S. aureus*-nak minősítettük.

A minták a harmadik leoltásig pozitívak voltak *Salmonella*-ra. A kontroll mintában a negyedik mintavételkor is volt *Salmonella*.

A kísérlet során a leoltás előrehaladtával az *E. coli*-k száma fokozatosan emelkedett (12. ábra). Az első leoltáskor a kiértékelési határ (<10) alatt volt a telepek száma. A második leoltásra a legnagyobb növekedést a 2%-os termék esetében tapasztaltuk. Minden termék esetén nőtt a sejtszám, a kontroll azonban a kiértékelési határ alatt maradt még a harmadik leoltás esetén is, amelyre az eltarthatósági vizsgálat 21. napján került sor. A mérés során a legnagyobb növekedést a 1,5 és 2%-os termékeknél tapasztaltuk. A növekedésnek több oka is lehet, egyik például a zsálya hatóanyagai elleni rezisztencia, melyet Shirazi et al. (2008) is leírt. A 4/1998 EüM rendelet nem szabályozza húsipari termékben az *E. coli* mennyiségét,

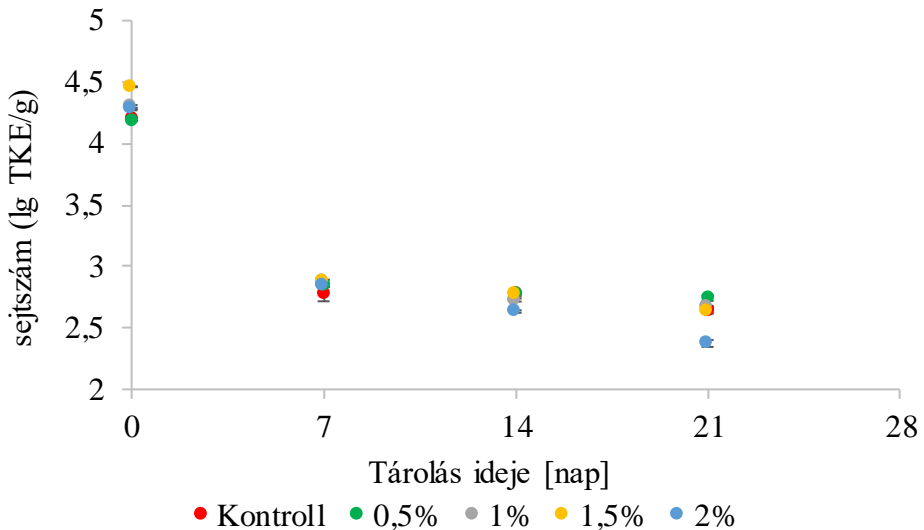
viszont mivel indikátor mikroba, fontosnak tartottuk a vizsgálatát (Odonkor és Ampofo, 2013). A tipikus *E. coli* telep CC agaron sötétkék, megerősítő vizsgálatához pedig Kovács-féle indol reagenst használtunk, *E. coli* esetén a reagens meggyvörös színű lesz (Miller és Wright, 1982). A telepek adták a megerősítő vizsgálatot.



12. ábra: Zsályával kiegészített minták *E. coli* eredményei

Kóliformok esetében a kiindulási sejtszám mindegyik esetben a négyes nagyságrend fölött volt, majd a leoltás előrehaladtával csökkent. A második leoltásra megközelítőleg két nagyságrendnyi csökkenést tapasztaltunk, melyet a további leoltások alkalmával tized nagyságrendnyi csökkenés követett. A 13. ábrán látható, hogy a vizsgálat ideje alatt a sejtszámok kismértékben változtak, minden minta esetén. A kétmintás t-próba szerint az első leoltáskor a kontroll minta és a szárított zsályát tartalmazó minták összehasonlítása során szignifikáns ($p > 0,05$) volt a különbség ($p_{K-0,5\%} = 0,001$; $p_{K-1\%} = 0,004$; $p_{K-1,5\%} > 0,000$; $p_{K-2\%} = 0,004$). A második leoltás-

kor nem találtunk szignifikáns különbséget a kontroll és az adalékolt minták között egy esetben sem. A harmadik leoltáskor azonban, a kontroll és 1%-os ($p=0,035$), a kontroll és 1,5%-os ($p<0,000$), kontroll és 2%-os ($p<0,000$) minták között volt bizonyíthatóan szignifikáns különbség. A 21. napon a kontroll és 0,5%-os ($p=0,008$), a kontroll és 2%-os ($p<0,000$) minták között figyeltünk meg statisztikailag szignifikáns különbséget.



13. ábra: Zsályával kiegészített minták Kóliform eredményei

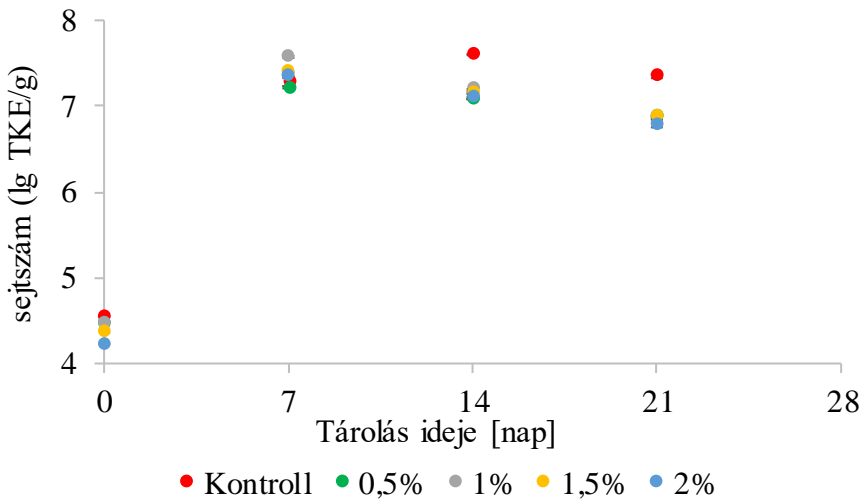
A minták az első és második leoltáskor tartalmaztak élesztősejteket, melyek a harmadik leoltásnál már nem jelentek meg. A kiindulási sejtszámok közel azonosak voltak, a legkisebb a 1,5%-os ($2,59\pm 0,02$ lgTKE/g), míg a legnagyobb a 2%-os ($2,93\pm 0,01$ lg TKE/g) mintákban volt. A második leoltásra az 1%-os, 1,5%-os, 2%-os és kontroll mintákban az élesztőszám nem csökkent jelentősen, míg a 0,5%-os zsályakonzentrációt tartalmazó mintában 0,3 nagyságrendnyi volt a csökkenés. A kétmintás t-próba alapján a kontroll minta és a szárított zsályát tartalmazó minták között egy esetben nem volt szignifikáns eltérés (első leoltás, kontroll-1%-os minta:

$p=0,150$), ezen kívül mindkét leoltás esetén, minden esetben szignifikáns különbségeket detektáltunk.

A penész vizsgálata során hasonló eredményeket kaptunk, mint az élesztő esetén, mivel a 14. és 21. napon történt leoltásnál nem tapasztaltunk tipikus penész telepeket a lemezeken. A kiindulási sejtszám a kontroll terméknél volt a legnagyobb ($2,9 \pm 0,01$ lg TKE/g), a legkisebb az 1,5%-os mintában volt, $2,41 \pm 0,02$ lg TKE/g. A 7. napra jelentősebb sejtszámcsökkenést a kontroll ($2,47 \pm 0,01$ lg TKE/g) és a 2%-os ($2,23 \pm 0,03$ lg TKE/g) mintákban tapasztaltunk. A 0,5%-os mintában $2,6 \pm 0,01$ lg TKE/g-ról a penészsám $2,25 \pm 0,01$ lg TKE/g-ra csökkent, míg az 1% és 1,5%-os mintáknál a csökkenés elhanyagolható mértékű volt. A 14. napon történt leoltásnál nem találtunk penészt a mintákban. A kétmintás t-próba alapján az első leoltáskor minden esetben szignifikáns volt a különbség a kontroll és adalékolt minták összehasonlításakor ($p_{K-0,5\%} < 0,000$; $p_{K-1\%} = 0,001$; $p_{K-1,5\%} = 0,001$; $p_{K-2\%} < 0,000$). A második leoltáskor a kontroll és 2%-os adalékolt minta esetén nem, viszont a többi adalékolt minta és kontroll között szignifikáns volt a különbség ($p_{K-0,5\%} < 0,000$; $p_{K-1\%} = 0,003$; $p_{K-1,5\%} = 0,006$).

Az összes telepképző egység esetében a második leoltáskor ugrás-szerű növekedést, majd kismértékű csökkenést tapasztaltunk (14. ábra). A kiindulási sejtszámok $4,22$ – $4,55$ lg TKE/g között mozogtak, a legnagyobb a kontroll terméké ($4,55 \pm 0,03$ lg TKE/g), míg a legkisebb a 2%-os ($4,22 \pm 0,03$ lg TKE/g) mintában volt. A 7. napon történt leoltás esetén minden mintában megközelítőleg 3 nagyságrendnyi növekedést tapasztaltunk. A legnagyobb növekedés az 1%-os (3,119 nagyságrend) és a 2%-os (3,115 nagyságrend) mintákban volt. Feng et al. (2014) hasonló növekedést tapasztaltak, annyi különbséggel, hogy a kísérletükben ugyanazt a nagyságrendet a 25. napon érték el, melyet mi a 7. napon. A 4/1998 EüM rendelet

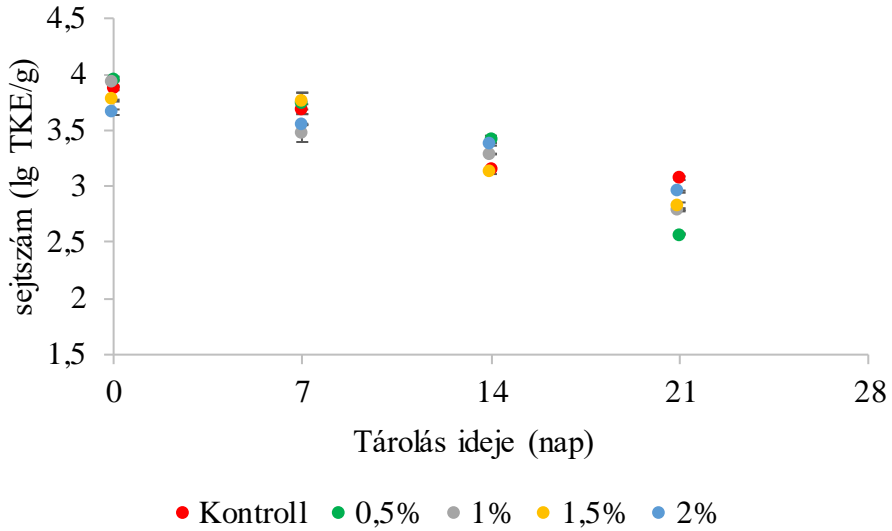
termékben nem írja elő az összcsíra felső határát, kizárólag nyers hús esetében állapít meg határértéket 10^7 TKE/g értékben. Ha a terméket lédig tároltuk volna, a növekedés folytatódott volna, ez is bizonyítja a vákuumcsomagolás előnyét (Baran et al., 1970). Az első leoltáskor minden, a kontroll minta sejtszámához viszonyított adalékolt minta esetén szignifikáns volt a különbség ($p_{K-0,5\%}=0,016$; $p_{K-1\%}=0,007$; $p_{K-1,5\%}=0,002$; $p_{K-2\%}=0,011$). A 7. napon történő leoltáskor a különbség a kontroll és 2%-os minta között nem, a többi adalékolt minta és a kontroll között azonban szignifikáns volt ($p_{K-0,5\%}=0,005$; $p_{K-1\%}=0,018$; $p_{K-1,5\%}=0,001$). A harmadik (14. nap) leoltáskor a kontroll és 1,5%-os minta között nem, de a többi minta és kontroll összehasonlításakor megfigyeltünk szignifikáns különbséget ($p_{K-0,5\%}=0,045$; $p_{K-1\%}=0,001$; $p_{K-2\%}=0,004$). A 21. napon történő leoltáskor minden vizsgált esetben szignifikáns különbséget találtunk ($p_{K-0,5\%}=0,001$; $p_{K-1\%}<0,000$; $p_{K-1,5\%}<0,000$; $p_{K-2\%}<0,000$).



14. ábra: Zsályával kiegészített minták összes telepkepző egység száma

4.2.2. Szárított oregánóval kiegészített kolbász mikrobiológiai vizsgálat eredményei

A szárított oregánót tartalmazó kolbászban már az első leoltáskor a 4/1998 EüMrendelet által meghatározott határérték (10^2 TKE/g) majdnem kétszeresét mutattuk ki *Cl. perfringens* esetén. A legnagyobb sejtszámot a 0,5%-os terméknel találtuk, $3,96 \pm 0,01$ lg TKE/g. Ahogy a 15. ábrán is látható, a *Cl. perfringens* szám az oregánó koncentrációjával fordított arányban csökkent. Irodalmi források alapján elmondható, hogy az oregánó hatóanyagai hatásosak *Cl. perfringens* ellen (Juneja et al., 2006; Juneja és Friedman, 2007; Radaelli et al., 2016). A leoltások előrehaladtával fokozatosan csökkent a sejtszám, de a 10^2 visszautasítási határérték alá egyik esetben sem csökkent. A legnagyobb csökkenést a 0,5%-os minta esetén tapasztaltuk, a kiindulási sejtszámról ($3,96 \pm 0,01$ lg TKE/g) a 21. napon $2,58 \pm 0,01$ lg TKE/g sejtszámra. Az első leoltáskor a kontroll és 1%-os minták esetén nem volt szignifikáns különbség, a kontroll és a többi kiegészített minta között igen ($p_{K-0,5\%}=0,013$; $p_{K-1,5\%}=0,009$; $p_{K-2\%}=0,011$). A 7. napon történt leoltáskor szignifikáns különbség a kontroll és 1%-os ($p=0,010$), a kontroll és 2%-os ($p=0,036$) minták között figyeltünk meg. A 14. napos leoltáskor szignifikáns különbséget ismét a kontroll és 1%-os ($p=0,010$), a kontroll és 2%-os ($p=0,036$) minták között figyeltünk meg. A 21. napon minden kontrollhoz hasonlított adalékolt minta esetén szignifikáns volt a különbség ($p_{K-0,5\%}<0,000$; $p_{K-1\%}<0,000$; $p_{K-1,5\%}=0,010$; $p_{K-2\%}=0,001$).



15. ábra: *Clostridium perfringens* vizsgálat eredményei

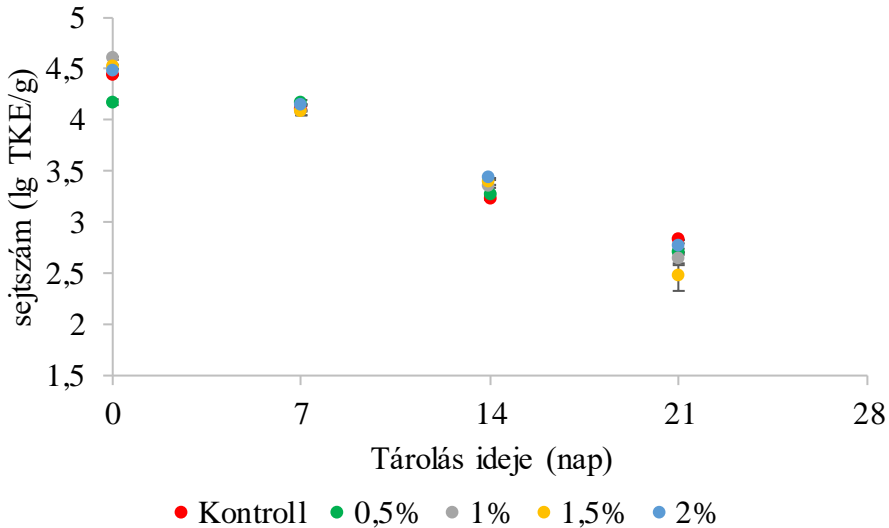
A mintákban *St. aureus* vizsgálatokor találtunk néhány fekete telepet, viszont ezek nem mutatták a tipikus telepek jegyeit. Elvégeztük a megerősítő vizsgálatot, amely egyik esetben sem volt pozitív.

Minden minta esetén a 7. napig mutattunk ki *Salmonella*-t, azonban a 14. és 21. napon egyik minta sem tartalmazta ezt a kórokozó mikroorganizmust.

Az oregánóval kiegészített kolbászmintákban egyik leoltás alkalmával sem találtunk *E. coli* telepeket.

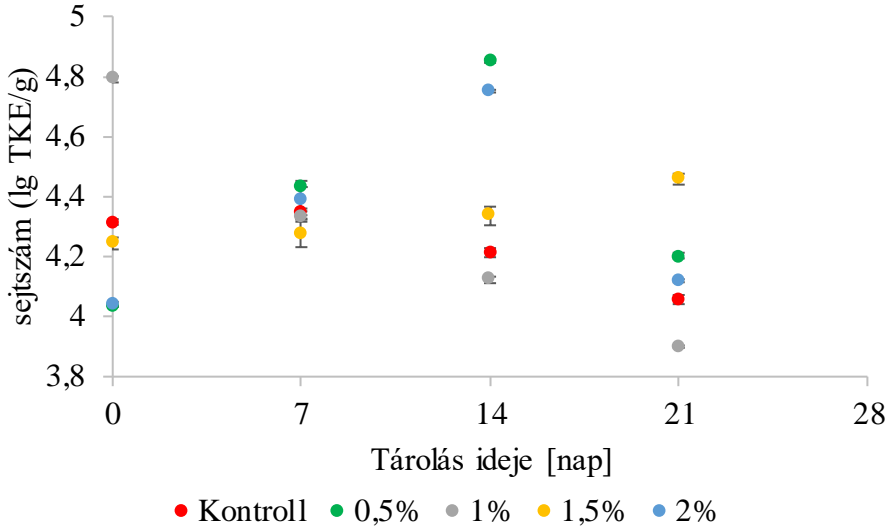
Kóliform esetén a legnagyobb kiindulási sejtszámot az 1%-os mintánál mértük, $4,6 \pm 0,02$ lg TKE/g, míg a legkisebbet a 0,5%-os minta esetén, $4,18 \pm 0,03$ lg TKE/g. A második leoltásnál a 0,5%-os minta sejtszáma nem változott jelentősen, míg az 1%-os termék sejtszáma 0,53 nagyságrendet csökkent (16. ábra), $4,6 \pm 0,02$ lg TKE/g-ról $4,07 \pm 0,03$ lg TKE/g-ra. A leoltások előrehaladtával a sejtszámok minden esetben csökkentek, a

legnagyobb csökkenést az 1,5%-os mintánál tapasztaltuk, a kiindulási sejtszáma $4,52 \pm 0,02$ lg TKE/g volt, míg a 21. napon mért szám $2,46 \pm 0,13$ lg TKE/g volt. A kétmintás t-próba elvégzése után az első leoltáskor a kontroll és 2%-os minták között nem, a többi esetben szignifikáns különbséget találtunk ($p_{K-0,5\%}=0,005$; $p_{K-1\%}=0,005$; $p_{K-1,5\%}=0,015$). A 7. napon egy esetben, a kontroll és 1,5%-os ($p=0,020$) minták között találtunk szignifikáns különbséget. A kóliform vizsgálatának 14. napján, a kontroll mintával összehasonlított minták esetén minden esetben szignifikáns volt a különbség ($p_{K-0,5\%}=0,045$; $p_{K-1\%}=0,030$; $p_{K-1,5\%}=0,027$; $p_{K-2\%}=0,004$). Az utolsó, 21. napos leoltás esetén a kontroll és 0,5%-os ($p=0,002$), a kontroll és 1%-os ($p=0,024$), a kontroll és 1,5%-os ($p=0,045$) minták között volt szignifikáns a különbség.



16. ábra: Oregánóval kiegészített termék esetén a kóliform sejtszámának változása

A minták közül az 1%-os termék kiindulási élesztőszáma volt a legnagyobb, $4,78 \pm 0,01$ lg TKE/g, míg a 0,5%-os minta esetén a legkisebb ($4,03 \pm 0,00$ lg TKE/g). A második leoltásra a sejtszáma kontroll, a 0,5%-os, 1,5%-os és a 2%-os minták esetén nőtt, míg az 1%-os koncentrációban szárított oregánót tartalmazó minta esetében csökkent (17. ábra). A harmadik (14. nap) leoltáskor a kontroll és az 1%-os mintákban tovább csökkent a sejtszám, míg a 0,5%-os, 1,5%-os és 2%-os mintákban növekedett. Ez köszönhető a mintákban a sejtek nem egyöntetű elhelyezkedésének, vagy véletlen hibának, mely a leoltás közbeni hígítási sor, vagy pontatlan pipetázásnak is köszönhető. A 21. napon történő leoltáskor az 1,5%-os minta esetén ismét sejtszámnövekedést tapasztaltunk, míg a többi mintánál csökkent a sejtszám. A legnagyobb csökkenést a kiindulási sejtszámhoz viszonyítva, az 1%-os mintánál tapasztaltuk, $4,79 \pm 0,01$ lg TKE/g sejtszámról $3,90 \pm 0,00$ lg TKE/g sejtszámra. A kétmintás t-próba alapján, az első mintavétel esetén a kontroll és 1,5%-os minták között nem, a többi esetben szignifikáns volt a különbség ($p_{K-0,5\%}=0,037$; $p_{K-1\%}=0,040$; $p_{K-2\%}=0,045$). A 7. napon a kontroll és 0,5%-os ($p=0,006$), a kontroll és 1%-os ($p=0,013$) minták közötti különbség szignifikáns volt. A 14. napon minden összehasonlított minta esetén szignifikáns különbséget találtunk ($p_{K-0,5\%}<0,000$; $p_{K-1\%}=0,001$; $p_{K-1,5\%}=0,044$; $p_{K-2\%}<0,000$). A 21. napon szintén minden esetben szignifikáns különbséget találtunk ($p_{K-0,5\%}=0,009$; $p_{K-1\%}=0,001$; $p_{K-1,5\%}=0,042$; $p_{K-2\%}=0,033$).

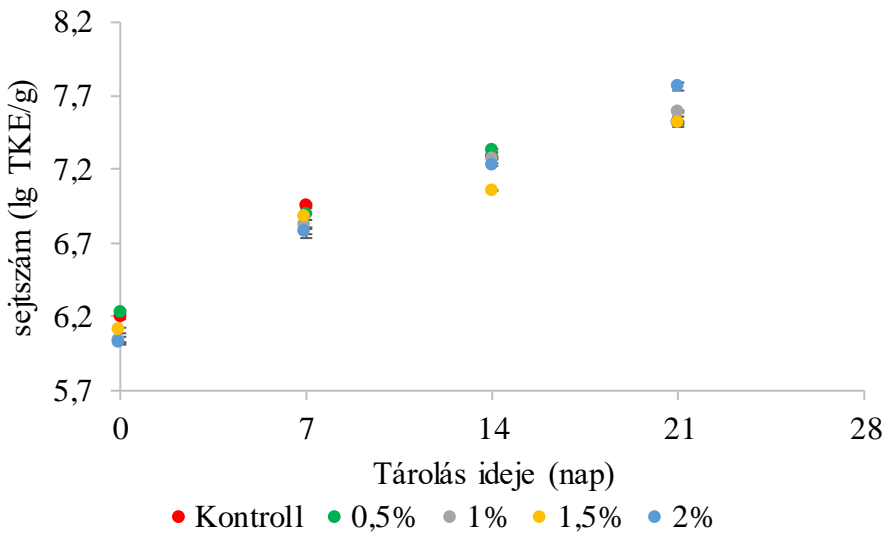


17. ábra: Élesztő sejtszámok alakulása

A mintákban a teljes vizsgálati szakaszt figyelembe véve nem tapasztaltunk penészsaporodást.

Az összes telepképző egység esetén azonban elmondható, hogy a leoltások előrehaladtával minden mintában fokozatosan növekedett azok mennyisége. A kiindulási sejtszámok is már nagyok voltak, a legnagyobb a 0,5%-os mintában ($6,24 \pm 0,01$ lg TKE/g), míg a legkisebb a 2%-os esetében volt ($6,02 \pm 0,01$ lg TKE/g). A második leoltásnál a sejtszámok az 1%-os és 2%-os minták esetén 17%-ot növekedtek (18. ábra), a legnagyobb növekedést (22%) a 0,5% adalékolt szárított oregánót tartalmazó minta esetén mértük. A negyedik leoltásra a 2%-os minta mutatta a legnagyobb mértékű sejtszám növekedés, $6,02 \pm 0,01$ lg TKE/g sejtszámról $7,76 \pm 0,03$ lg TKE/g sejtszámra, ezt követte az 1%-os minta esetén tapasztalt sejtszám növekedése. A kétmintás t-próba alapján az első leoltás alkalmával minden vizsgált esetben szignifikáns volt a különbség (p_K -

0,5%=0,032; $p_{K-1\%}=0,020$; $p_{K-1,5\%}=0,015$; $p_{K\%-2\%}=0,001$). A második leoltáskor a kontroll és 0,5%-os minták között nem, a többi esetben szignifikáns volt a különbség ($p_{K-1\%}=0,042$; $p_{K-1,5\%}=0,022$; $p_{K\%-2\%}=0,009$). A 14. napra a kontroll és 1%-os minták esetén nem, minden más esetben szignifikáns volt a különbség ($p_{K-0,5\%}=0,030$; $p_{K-1,5\%}=0,013$; $p_{K\%-2\%}=0,015$). Az utolsó (21. napos), leoltáskor nem volt statisztikai különbség a kontroll és 0,5%-os, a kontroll és 1,5%-os minták között, a másik két esetben igen ($p_{K-1\%}=0,028$; $p_{K\%-2\%}<0,000$).

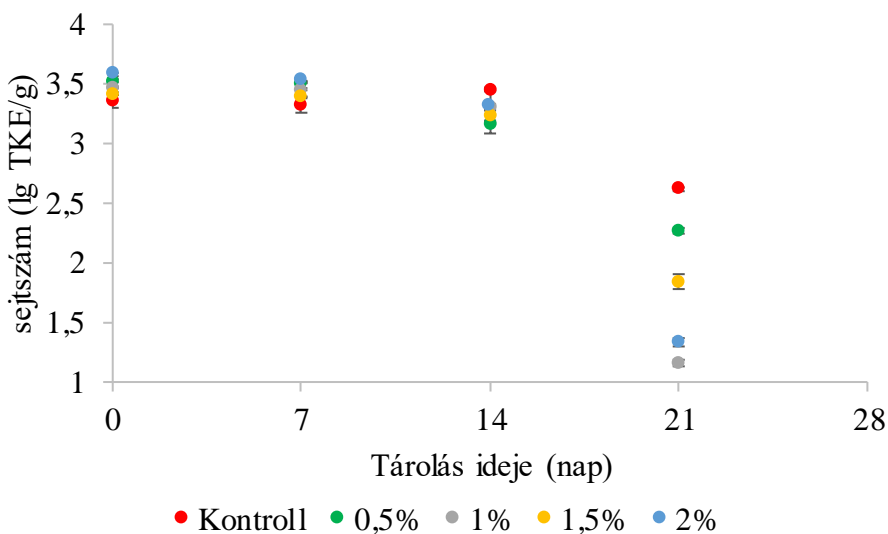


18. ábra: Oregánóval kiegészített kolbászminta összes telepképző egység számának változása

4.2.3. Száritott kakukkfűvel kiegészített kolbász mikrobiológiai vizsgálat eredményei

Cl. perfringens vizsgálatokor minden leoltáskor találtunk tipikus teleket. A kiindulási sejtszám a 2%-os mintában ($3,58\pm 0,01$ lg TKE/g) volt a legnagyobb, míg a legkisebb a kontroll mintában ($3,35\pm 0,05$ lg TKE/g). Az első három leoltás alkalmával a sejtszámok kismértékben csökkentek,

majd a 21. napi leoltásnál az 1%, 1,5% és 2%-os mintáknál ugrásszerűen csökkent, ahogy a 19. ábrán is látható. A legnagyobb sejtszámesökkenést az 1%-os minta esetén tapasztaltuk, a kiindulási $3,47 \pm 0,01$ lg TKE/g sejtszámról az $1,16 \pm 0,03$ lg TKE/g sejtszámra. A 21. napi leoltásra a kontroll termékben volt a legmagasabb a sejtszám, $2,62 \pm 0,02$ lg TKE/g, ezt követte a 0,5%-os minta, $2,27 \pm 0,02$ lg TKE/g sejtszámmal. A t-próba az első leoltáskor a kontroll és 0,5%-os ($p=0,045$), a kontroll és 2%-os ($p=0,014$) minták között mutatott szignifikáns különbséget. A 7. napon két esetben találtunk szignifikáns különbséget ($p_{K-0,5\%}=0,039$; $p_{K\%-2\%}=0,033$). A harmadik leoltáskor, a 14. napon, a minták T-próbával történő összehasonlításakor a kontroll és 0,5%-os ($p=0,033$), a kontroll és 1%-os ($p=0,026$) különbség szignifikáns volt. A 21. napon történő leoltás esetén egy esetben, a kontroll és 0,5%-os minták között nem, a többi esetben igen ($p_{K-1\%}=0,010$; $p_{K-1,5\%}=0,003$; $p_{K\%-2\%}=0,003$).



19. ábra: *Cl. perfringens* vizsgálat eredményei kakukkfű esetén

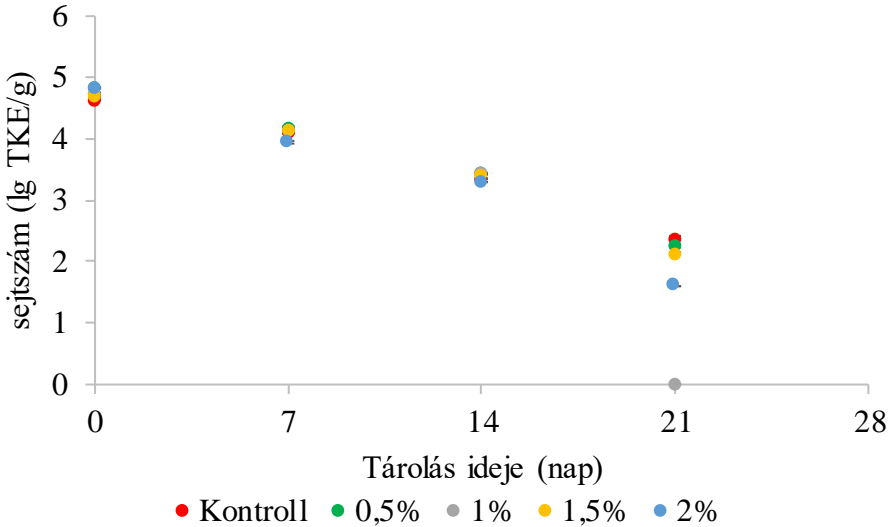
A mintákban az első leoltás alkalmával találtunk *St. aureus* telepeket, viszont a többi leoltáskor a lemezeken nem fejlődött egyetlen telep sem. A megerősítő vizsgálatot elvégeztük, az első leoltáskor minden minta tartalmazott *St. aureus*-t (kontroll: $2,40 \pm 0,01$ lg TKE/g; 0,5%: $2,68 \pm 0,01$ lg TKE/g; 1%: $2,65 \pm 0,04$ lg TKE/g; 1,5%: $2,31 \pm 0,01$ lg TKE/g; 2%: $2,79 \pm 0,02$ lg TKE/g). A t-próba szerint minden esetben szignifikáns volt a különbség ($p_{K-0,5\%} < 0,000$; $p_{K-1\%} = 0,012$; $p_{K-1,5\%} < 0,000$; $p_{K\%-2\%} = 0,001$).

A kontroll minta esetén a 14. napig mutattunk ki *Salmonella*-t a sütőkolbászból, a 0,5%-os termékben is volt még a 14. napon. A többi minta esetén a 7. napig mutattunk ki.

A kakukkfűvel kiegészített mintákban sem találtunk tipikus *E. coli* telepeket.

Kóliform esetén a sejtszámok a leoltás előrehaladtával fokozatosan csökkentek. A kiindulási sejtszám a 0,5%-os minta esetén volt a legnagyobb, $4,83 \pm 0,01$ lg TKE/g, míg a kontroll mintánál a legkisebb, $4,63 \pm 0,01$ lg TKE/g. A legnagyobb csökkenést a vizsgálat végéig az 1%-os minta esetén tapasztaltuk, mivel a 21. napon történő leoltáskor egy kóliform telep sem fejlődött a lemezeken (20. ábra). A kontroll, a 0,5%-os és az 1,5%-os termékek a sejtszám még nagy maradt, a második jelentősebb csökkenést a 2%-os minta esetén volt, a $4,79 \pm 0,04$ lg TKE/g kiindulási sejtszámról, $1,6 \pm 0,0$ lg TKE/g-ra csökkent a sejtszám. A kétmintás t-próba az első leoltáskor minden esetben mutatott szignifikáns különbséget ($p_{K-0,5\%} < 0,000$; $p_{K-1\%} = 0,006$; $p_{K-1,5\%} = 0,015$; $p_{K\%-2\%} = 0,012$). A második leoltáskor nem volt szignifikáns különbség a kóliform sejtszámokban a kontroll és 1%-os minták között, a többi esetben viszont igen ($p_{K-0,5\%} = 0,021$; $p_{K-1,5\%} = 0,012$; $p_{K\%-2\%} = 0,002$). A harmadik mintavételi napon egyedül a kontroll és 1,5%-os minták között nem volt statisztikailag szignifikáns a

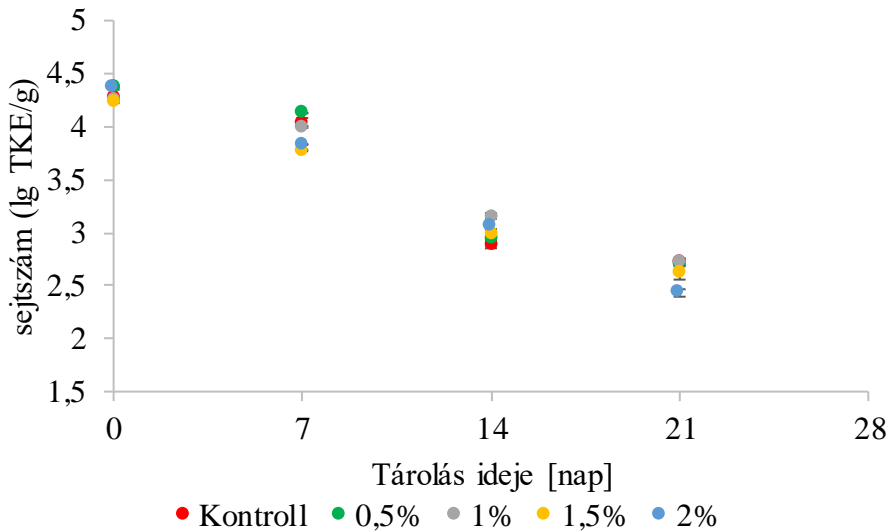
különbség, a többi esetben igen ($p_{K-0,5\%}=0,002$; $p_{K-1\%}=0,007$; $p_{K\%-2\%}=0,003$). A 21 napos leoltáskor a kontroll és 0,5%-os ($p=0,083$) minta összehasonlításakor nem volt a különbség szignifikáns, minden más esetben igen ($p_{K-1\%}<0,000$; $p_{K-1,5\%}=0,019$; $p_{K\%-2\%}=0,003$).



20. ábra: Kóliform vizsgálat eredményei kakukkfűves kolbászminták esetén

Élesztő esetében is a mintavételi napok előrehaladtával a sejtszám minden termékben csökkent. A 0,5%-os termék kiindulási sejtszáma volt a legnagyobb, $4,37\pm 0,02$ lg TKE/g, ezt követte a 2%-os minta, $4,36\pm 0,01$ lg TKE/g sejtszámmal. A második (7. nap) leoltáskor a 2%-os minta esetén volt a legnagyobb a csökkenés (21. ábra), 0,53 nagyságrendnyi. Ahogy a 17. ábrán is látható, a 2%-ban kakukkfűvet tartalmazó minta esetén csökkent jelentősebben a sejtszám, viszont a többi minta sem maradt el tőle nagymértékben. A statisztikai összehasonlítás alapján elmondható, hogy az első leoltás napján a kontroll és 0,5%-os ($p=0,009$), a kontroll és 2%-os

($p=0,014$) minták között volt szignifikáns a különbség. A 7. napos vizsgálat során a kontroll és 1%-os ($p=0,001$), a kontroll és 1,5%-os ($p<0,000$) minták között figyeltünk meg szignifikáns különbséget. A 14. napon a kontroll és 1%-os ($p=0,019$), a kontroll és 2%-os ($p=0,004$) minták közt volt kimutatható szignifikáns különbség. A 21. napon szintén két esetben találtunk szignifikáns különbséget ($p_{K-1,5\%}=0,050$; $p_{K\%-2\%}=0,010$).

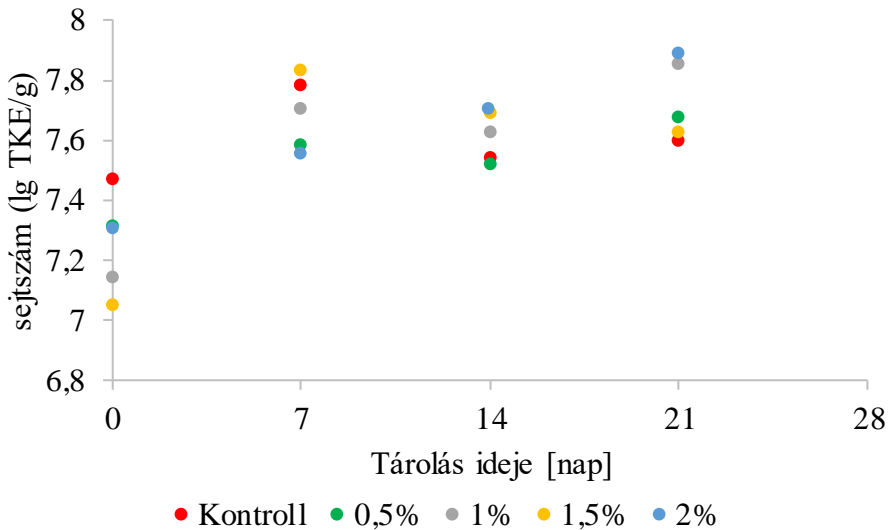


21. ábra: Élesztőszám változása kakukkfűvel kiegészített kolbászmintákban

Penész esetén nem találtunk egyik leoltás alkalmával sem tipikus telepeket a lemezeken.

Az összes telepképző egység esetén elmondható, hogy minden koncentráció esetén, a mintavételi napok előrehaladtával nőtt a sejtszám. A legnagyobb növekedést az 1%-os minta esetén tapasztaltuk, a kiindulási sejtszám $7,1\pm 0,05$ lg TKE/g volt, míg a 21. napon $7,86\pm 0,02$ lg TKE/g volt. A legkisebb növekedés a kontroll termék esetén volt tapasztalható, a kiindulási sejtszám $7,47\pm 0,01$ lg TKE/g (22. ábra), míg a vizsgálat végén

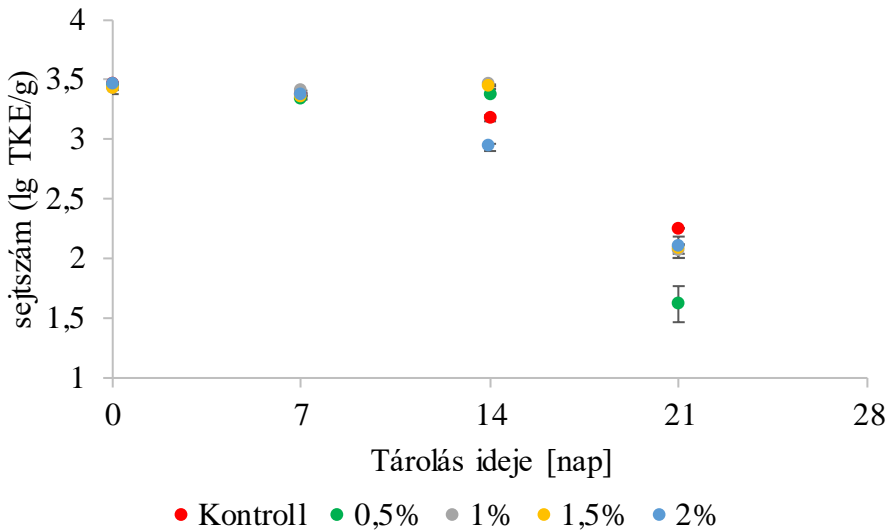
a sejtszám $7,59 \pm 0,02$ lg TKE/g volt. Az 1,5%-os minta esetén volt tapasztalható még jelentősebb növekedés, a $7,14 \pm 0,0$ lg TKE/g sejtszámról $7,86 \pm 0,02$ lg TKE/g sejtszámra. Az összes telepkepző egység számok t-próbával való összehasonlítása után elmondható, hogy az első leoltáskor minden esetben szignifikáns különbséget találtunk ($p_{K-0,5\%}=0,050$; $p_{K-1\%}<0,000$; $p_{K-1,5\%}=0,006$; $p_{K\%-2\%}=0,001$). A 7. napon a kontroll és 1,5%-os minták közt nem, a többi esetben szignifikáns volt a különbség ($p_{K-0,5\%}<0,000$; $p_{K-1\%}=0,003$; $p_{K\%-2\%}=0,001$). A harmadik (14. nap) leoltáskor, minden esetben szignifikáns különbséget találtunk ($p_{K-0,5\%}=0,021$; $p_{K-1\%}=0,002$; $p_{K-1,5\%}=0,001$; $p_{K\%-2\%}=0,002$). Az utolsó mintavétel napján a kontroll és 0,5%-os minták között nem, a többi esetben tapasztalt különbség szignifikáns volt ($p_{K-1\%}=0,002$; $p_{K-1,5\%}=0,001$; $p_{K\%-2\%}<0,000$).



22. ábra: Kakukkfűvel kiegészített minták összes telepkepző egység száma

4.2.4. Száritott rozmaringgal kiegészített kolbász mikrobiológiai vizsgálat eredményei

A rozmaringgal kiegészített minták esetén is a visszautasítási határ fölötti kiindulási *Cl. perfringens* sejtszámot mutattunk ki. Ezek a sejtszámok megközelítőleg hasonlóak voltak az első mintavétel során (kontroll: $3,47 \pm 0,00$ lg TKE/g; 0,5%: $3,45 \pm 0,02$ lg TKE/g; 3,43 \pm 0,02 lg TKE/g; 1,5%: $3,42 \pm 0,04$ lg TKE/g; 2%: $3,46 \pm 0,01$ lg TKE/g). A 21. napra a legnagyobb sejtszámcsökkenést a 0,5%-os minta esetén tapasztaltuk, $1,62 \pm 0,15$ lg TKE/g volt a leszámolt sejtek száma (23. ábra). Az 1%-os ($2,06 \pm 0,05$ lg TKE/g), 1,5%-os ($2,07 \pm 0,03$ lg TKE/g) és 2%-os ($2,09 \pm 0,08$ lg TKE/g) minta sejtszáma megközelítőleg megegyezett, néhány század eltérés volt az utolsó leoltáskor. Az első leoltáskor csak a 0,5%-os és 1%-os ($p=0,001$) minták között volt szignifikáns a különbség, a többi esetben nem. A második leoltáskor a kontroll és 0,5%-os ($p=0,019$), a kontroll és 1,5%-os ($p=0,031$) minták között találtunk szignifikáns különbséget. A harmadik leoltáskor minden esetben szignifikáns volt a különbség az összehasonlított sejtszámok között ($p_{K-0,5\%}=0,005$; $p_{K-1\%}=0,005$; $p_{K-1,5\%}=0,007$; $p_{K-2\%}<0,000$). A 21. napos mintavétel eredményei közül a kontroll és 2%-os esetén nem, a többi esetben szignifikáns volt a különbség ($p_{K-0,5\%}=0,018$; $p_{K-1\%}=0,030$; $p_{K-1,5\%}=0,014$).



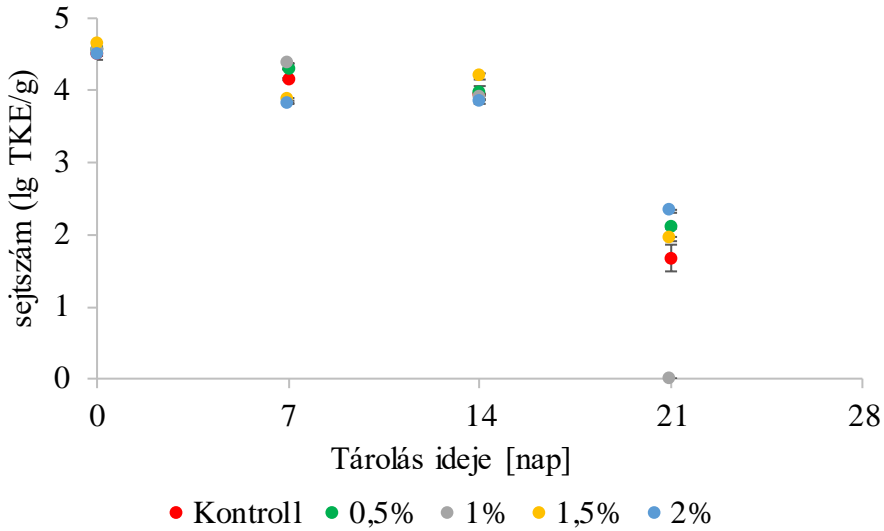
23. ábra: *Cl. perfringens* leoltások eredményei a rozmaringgal kiegészített kolbászmintákban

A rozmaringgal adalékolt kolbászok esetén is elmondható, hogy a *St. aureus* az első leoltáskor volt kimutatható a mintákból (kontroll: $2,41 \pm 0,02$ lg TKE/g; 0,5%: $2,41 \pm 0,0$ lg TKE/g; 1%: $2,15 \pm 0,06$ lg TKE/g; 1,5%: $2,08 \pm 0,07$ lg TKE/g; 2%: $2,35 \pm 0,03$ lg TKE/g). A telepek tipikusak voltak, megerősítettük, *St. aureus*-nak minősítettük. A statisztikai vizsgálat a kontroll és a 0,5%-os minták között nem, a többi esetben talált szignifikáns különbséget ($p_{K-1\%}=0,029$; $p_{K-1,5\%}=0,019$; $p_{K-2\%}=0,017$).

Salmonella esetén a kontroll mintában a 14. napig mutattuk ki, míg a szárított rozmaringot tartalmazó mintákban, az 1%-os kivételével, melyben a 14. napon is találtunk, a 7. nap volt az utolsó, mikor az XLD és BPLS lemezekén tipikus telepeket találtunk.

E. coli tipikus teleket e minták esetében sem mutattunk ki.

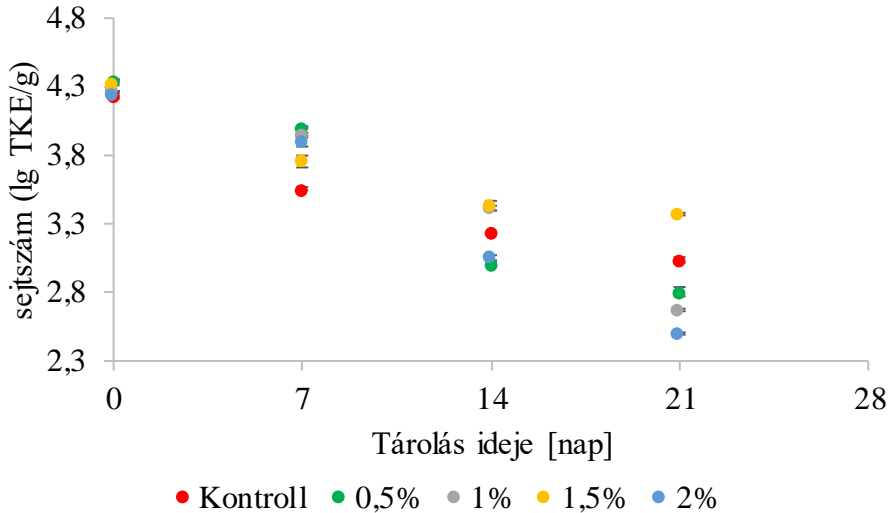
Kóliform esetén a kiindulási sejtszám az 1,5%-os kolbászminta esetében volt a legnagyobb, $4,63 \pm 0,02$ lg TKE/g. A mintavételi napok előrehaladtával a sejtszámok minden esetben csökkentek, fokozatosan. Az utolsó leoltáskor az 1%-os mintában nem találtunk tipikus kóliform telepeket (24. ábra), az ezt követő legkisebb sejtszámot a kontroll mintában mutattuk ki, $1,67 \pm 0,18$ lg TKE/g. A második legnagyobb csökkenést a kontroll, szárított rozmaringot nem tartalmazó minta esetén tapasztaltuk, a sejtszám a 21. npra $1,67 \pm 0,19$ lg TKE/g-ra csökkent. A 2%-os minta esetén volt a legkisebb a csökkenés, a 21. napon a sejtszám $2,32 \pm 0,02$ lg TKE/g volt. Az első leoltáskor csak a kontroll és 1,5%-os ($p=0,005$) minta közt volt szignifikáns a különbség. A második leoltáskor minden esetben szignifikáns volt a különbség ($p_{K-0,5\%}=0,005$; $p_{K-1\%}=0,002$; $p_{K\%-1,5\%}<0,000$; $p_{K-2\%}<0,000$). A harmadik leoltáskor szintén minden esetben szignifikáns különbséget tapasztaltunk ($p_{K-0,5\%}=0,018$; $p_{K-1\%}=0,001$; $p_{K\%-1,5\%}=0,014$; $p_{K-2\%}=0,009$). A 21. napon a kontroll és 1,5%-os minták között nem volt szignifikáns a különbség, minden más esetben igen ($p_{K-0,5\%}=0,047$; $p_{K-1\%}=0,001$; $p_{K-2\%}=0,024$).



24. ábra: Kóliform sejtszámok a rozmaringgal kiegészített kolbászok esetén

Élesztő esetén is fokozatos volt a csökkenés a mintavételi napok előrehaladtával. A kiindulási sejtszám az 0,5%-os mintában volt a legnagyobb, $4,35 \pm 0,01$ lg TKE/g, a legkisebb a kontroll mintában, $4,23 \pm 0,02$ lg TKE/g. A másik három koncentráció nem volt szignifikánsan kisebb (1%: $4,26 \pm 0,00$ lg TKE/g; 1,5%: $4,32 \pm 0,01$ lg TKE/g; 2%: $4,25 \pm 0,01$ lg TKE/g). A csökkenés, a négy mintavételi napot összehasonlítva, a 2%-os minta esetében volt a jelentősebb (25. ábra), a 21. napra $2,5 \pm 0,01$ lg TKE/g értékre csökkent a sejtszám, a legalacsonyabbra a minták közül. A 21. napra az 1,5%-os mintánál tapasztaltuk, a minták közül, a legkisebb csökkenést, a sejtszám $3,37 \pm 0,01$ lg TKE/g volt. Az első leoltáskor a t-próba a kontroll és 0,5%-os ($p=0,007$), a kontroll és 1,5%-os ($p=0,045$) minták között mutatott szignifikáns különbséget. A második leoltás alkalmával minden esetben szignifikáns különbséget tapasztaltunk ($p_{K-0,5\%}=0,001$; $p_{K-1\%}=0,001$; $p_{K-1,5\%}=0,025$; $p_{K-2\%}=0,006$). Ez igaz volt a harmadik leoltásra

is ($p_{K-0,5\%}<0,000$; $p_{K-1\%}=0,001$; $p_{K\%-1,5\%}=0,012$; $p_{K-2\%}=0,001$). A 21. napon is minden összehasonlított minta esetén szignifikáns különbséget tapasztaltunk ($p_{K-0,5\%}=0,001$; $p_{K-1\%}<0,000$; $p_{K\%-1,5\%}=0,003$; $p_{K-2\%}=0,001$).

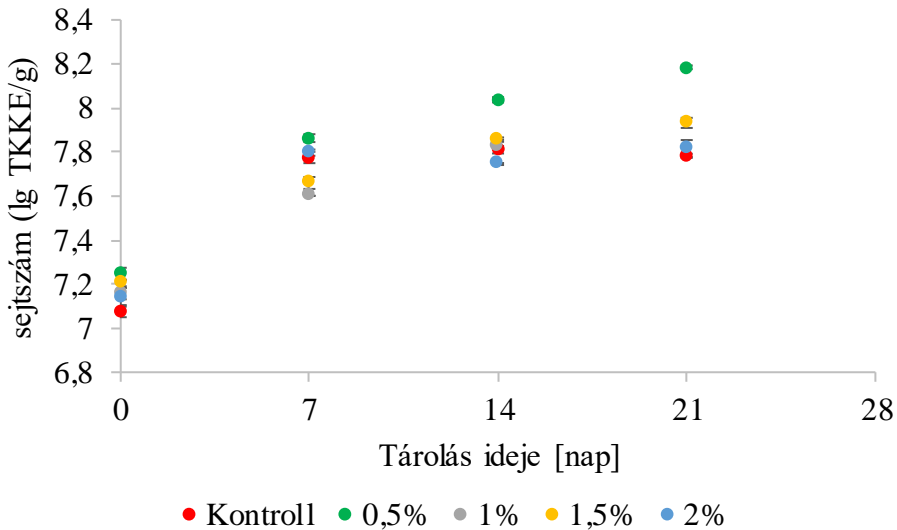


25. ábra: Élesztő sejtszámok rozsmaringgal kiegészített minták esetén

A mintákban nem volt kimutatható az YGC lemezen egy esetben sem penésztelep.

Az összes telepképző egység száma a mintavételi napok előrehaladtával fokozatosan nőtt. A 7. napra a kontroll mintában 10%-os sejtszámnövekedést figyeltünk meg, a kiindulási $7,07\pm 0,03$ lg TKE/g sejtszámról, $7,78\pm 0,03$ lg TKE/g sejtszámra. A második legnagyobb sejtszámnövekedést a 2%-os mintánál tapasztaltuk (26. ábra), a kiindulási sejtszámról ($7,14\pm 0,04$ lg TKE/g), $7,79\pm 0,01$ lg TKE/g sejtszámra. A 14. napra a kontroll mintában lassult a növekedés, míg a 0,5% ($8,03\pm 0,01$ lg TKE/g), 1% ($7,83\pm 0,02$ lg TKE/g) és 1,5% ($7,86\pm 0,01$ lg TKE/g) minták esetében $\sim 0,2$ nagyságrendet nőtt a sejtszám. A 21. napra a legnagyobb sejtszámot a 0,5%-os mintánál számoltuk, $8,18\pm 0,01$ lg TKE/g nőtt, a kiindulási

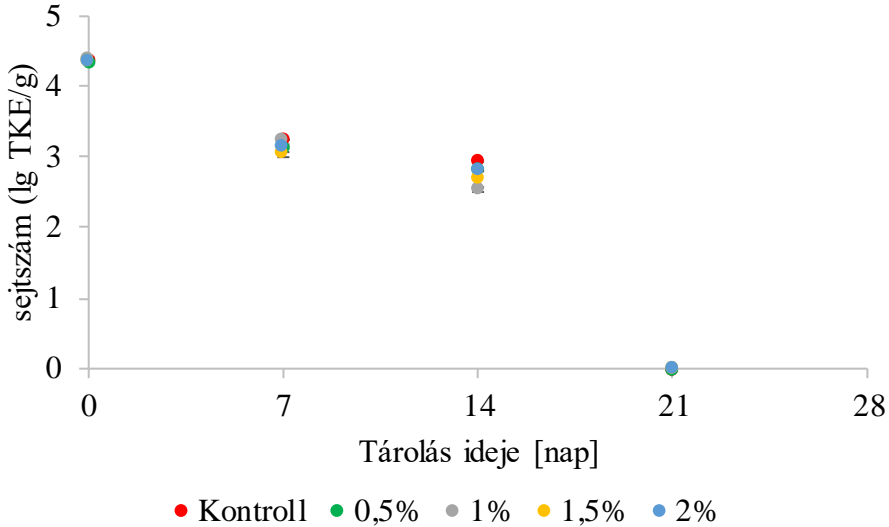
7,25±0,03 lg TKE/g sejtszámról, 864,4%-os növekedéssel. A második legnagyobb növekedést az 1,5%-os mintánál tapasztaltuk, a kiindulási 7,2±0,01 lg TKE/g sejtszámról, 7,93±0,02 lg TKE/g sejtszámra. Az első leoltáskor minden kontrollhoz viszonyított minta esetén szignifikáns volt a különbség ($p_{K-0,5\%}<0,000$; $p_{K-1\%}=0,002$; $p_{K-1,5\%}=0,004$; $p_{K-2\%}=0,023$). A második mintavételkor a kapott sejtszámok között a kontroll és 0,5%-os ($p=0,003$), illetve a kontroll és 1,5%-os ($p<0,000$) minták esetén találtunk szignifikáns különbséget, a többi esetben A harmadik (14. nap) leoltáskor a kontroll és 0,5%-os ($p<0,000$), a kontroll és 1,5%-os ($p=0,002$), a kontroll és 2%-os ($p=0,032$) minták esetében szignifikáns volt a különbség. A 21. napon három esetben találtunk szignifikáns különbséget ($p_{K-0,5\%}<0,000$; $p_{K-1\%}=0,006$; $p_{K-1,5\%}=0,004$)



26. ábra: Összes telepképző egység számának változása a rozmaringgal kiegészített kolbász esetén

4.2.5. Szárított bazsalikkal kiegészített kolbász mikrobiológiai vizsgálat eredményei

A mintákban a visszautasítási határ sejtszámának kétszeresét mutattuk ki *Cl. perfringens* esetében. A kiindulási sejtszámok közel voltak egymáshoz, $4,34 \pm 0,01$ lg TKE/g és $4,40 \pm 0,01$ lg TKE/g értékek között. A leoltások előrehaladtával a sejtszámok minden esetben csökkentek, kivétel nélkül. A 27. ábrán látható, hogy egy mintavételi nap alkalmával sem voltak jelentős különbségek a minták között. A 21. napon egy mintában sem mutattunk ki tipikus *Cl. perfringens* telepeket. A legnagyobb sejtszám-csökkenést az 1%-os minta esetén tapasztaltuk, a kiindulási $4,4 \pm 0,01$ lg TKE/g sejtszámról a nullára. A kétmintás t-próba szerint az első leoltáskor a minták között a kontroll és 0,5%-os ($p=0,019$), a kontroll és 1,5%-os ($p=0,031$) volt szignifikáns a sejtszámbeli különbség. A második (7. nap) leoltáskor a kontroll és 1,5%-os ($p=0,036$), a kontroll és 2%-os ($p=0,006$) minták között volt a különbség szignifikáns. A 14. napon minden esetben szignifikáns különbséget tapasztaltunk ($p_{K-0,5\%}=0,006$; $p_{K-1\%}=0,003$; $p_{K-1,5\%}=0,003$; $p_{K-2\%}=0,049$). A harmadik leoltáskor a kontroll és 0,5%-os ($p=0,034$), illetve a kontroll és 1%-os ($p=0,034$) minták között volt szignifikáns különbség.



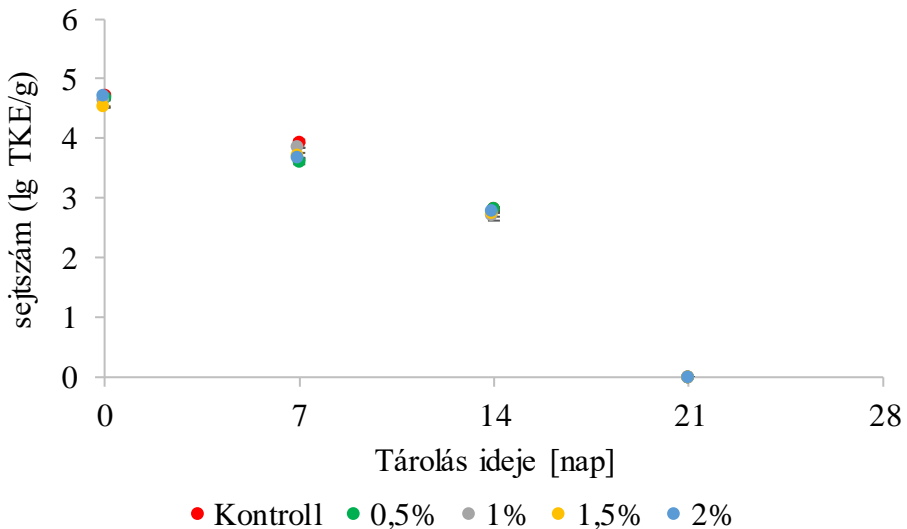
27. ábra: Bazsalikkal kiegészített kolbász *Cl. perfringens* csíraszámának változása

St. aureus e minták esetén is csak az első leoltáskor találtunk, a kontroll mintában $2,85 \pm 0,02$ lg TKE/g, a 0,5%-os mintában $3,03 \pm 0,01$ lg TKE/g, az 1%-os esetén $2,97 \pm 0,01$ lg TKE/g, az 1,5-os minta esetén $2,86 \pm 0,02$ lg TKE/g, míg a 2%-os mintában $2,85 \pm 0,01$ lg TKE/g. A 0,5%-os minta rendelkezett a legnagyobb kiindulási sejtszámmal. A minták közül a kontroll és 2%-os minták között nem volt szignifikáns a sejtszámbéli különbség, a többi esetben igen ($p_{K-0,5\%} < 0,000$; $p_{K-1\%} < 0,000$; $p_{K-1,5\%} = 0,049$).

A kontroll és 0,5%-os minta a 14. napig tartalmazott *Salmonella*-t, míg az 1%, 1,5% és 2%-os mintában a 7. napig mutattunk ki.

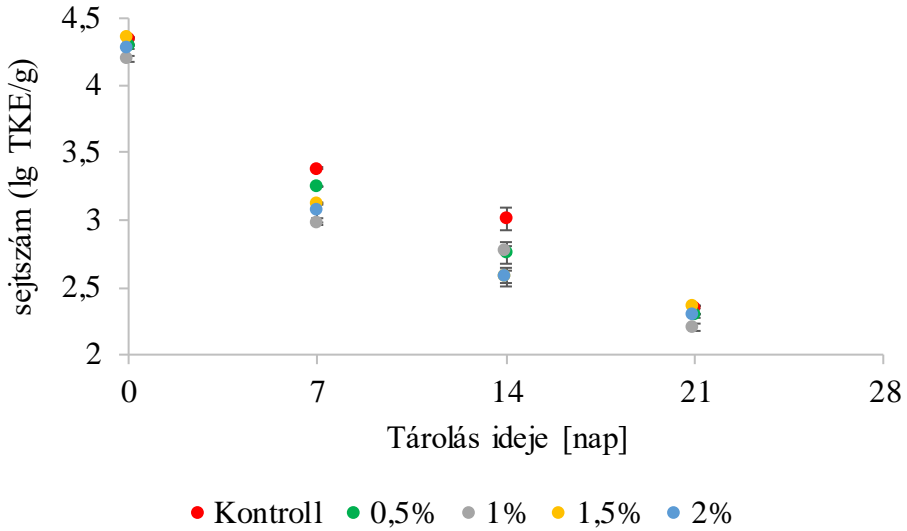
E. coli tipikus telepeket a lemezeken a bazsalikkal kiegészített sütkolbász esetén sem találtunk.

Kóliformok esetén a kontroll minta rendelkezett a legnagyobb kiindulási sejtszámmal, $4,72 \pm 0,04$ lg TKE/g (28. ábra), míg a legkisebb sejtszámmal az 1,5%-os minta, $4,53 \pm 0,00$ lg TKE/g. A sejtszámok a leoltások előrehaladtával csökkentek, minden esetben. A 23. ábrán látható, hogy kis mértékű különbség a 7. napon volt kimutatható, a 14. napon a különbség elhanyagolható volt. A 21. napon nem találtunk tipikus kóliform telepeket a lemezeken. A legnagyobb csökkenést a kontroll minta esetén tapasztaltuk. A kétmintás t-próba az első leoltáskor a kontroll és a 0,5%-os ($p=0,344$), a kontroll és 1%-os ($p=0,244$), illetve a kontroll és 2%-os ($p=0,658$) minták között nem mutatott szignifikáns különbséget. A második leoltáskor a kontroll és 0,5%-os ($p=0,042$), a kontroll és 1%-os ($p=0,001$), a kontroll és 1,5%-os ($p=0,002$) minták között volt megfigyelhető szignifikáns különbség. A harmadik leoltáskor a kontroll és 2%-os minták között nem volt szignifikáns a különbség, míg a többi esetben igen ($p_{K-0,5\%}=0,011$; $p_{K-1\%}=0,009$; $p_{K\%-1,5\%}<0,000$).



28. ábra: Kóliform sejtszámok a bazsalikkal kiegészített kolbászmintákban

Élesztő esetén is folyamatos volt a csökkenés, viszont a 21. napon még találtunk élesztőtelepeket a lemezeken. Az első leoltáskor az 1,5%-os minta rendelkezett a legnagyobb kiindulási sejtszámmal, $3,356 \pm 0,00$ lg TKE/g, a következő a kontroll minta volt, $4,352 \pm 0,01$ lg TKE/g, míg a legkisebb az 1%-os minta esetén volt a kiindulási sejtszám, $4,198$ lg TKE/g. A 7. napon szintén az 1%-os minta sejtszáma volt a legkisebb (29. ábra), helyét a 14. napon az 1,5%-os minta vette át, $2,78 \pm 0,05$ lg TKE/g sejtszámmal. A 21. napra a sejtszám, minden minta esetén 2 nagyságrendnyi csökkenést tapasztaltunk. A legkisebb sejtszámmal az 1%-os minta rendelkezett, $2,20 \pm 0,03$ lg TKE/g. Az első leoltáskor három esetben volt szignifikáns különbség tapasztalható ($p_{K-0,5\%}=0,004$; $p_{K-1\%}=0,014$; $p_{K-2\%}=0,034$). A 7. napi mintavételkor minden esetben szignifikáns volt a különbség ($p_{K\%-0,5\%}=0,001$; $p_{K\%-1\%}<0,000$; $p_{K-1,5\%}=0,001$; $p_{K-2\%}=0,009$). A harmadik leoltásra a kontroll és 0,5%-os minták között nem, minden más esetben szignifikáns volt a különbség ($p_{K-1\%}=0,019$; $p_{K\%-1,5\%}=0,009$; $p_{K-2\%}=0,039$). A 21. napi leoltáskor a kontroll és 1,5%-os ($p=0,423$) minták esetén nem volt a sejtszámok között szignifikáns különbség, a többi esetben igen ($p_{K\%-0,5\%}=0,014$; $p_{K\%-1\%}=0,019$; $p_{K-2\%}=0,038$).

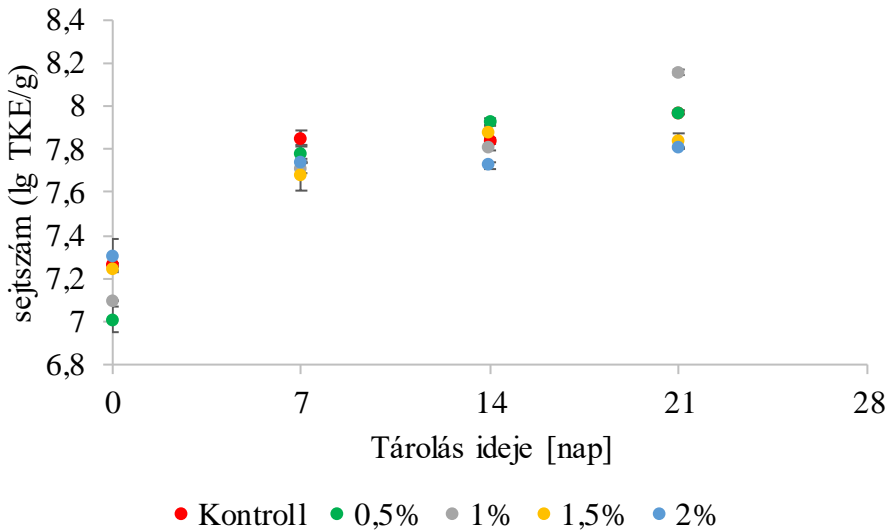


29. ábra: Élesztő sejtszámok a bazsalikkal kiegészített minták esetén

A bazsalikkal kiegészített mintákban sem találtunk tipikus penész telepeket.

Az összes telepképző egység szám az első leoltás alkalmával a kontroll termékben volt a legnagyobb ($7,26 \pm 0,01$ lg TKE/g). A sejtszámok minden leoltás alkalmával nőttek. A 7. napra jelentősebb sejtszámnövekedést a kontroll ($7,26 \pm 0,01$ lg TKE/g sejtszámról $7,85 \pm 0,03$ lg TKE/g sejtszámra), a 0,5%-os minta ($7,01 \pm 0,06$ lg TKE/g-ról, $7,78 \pm 0,03$ lg TKE/g sejtszámra) és az 1%-os minta ($7,09 \pm 0,00$ lg TKE/g sejtszámról, $7,71 \pm 0,02$ lg TKE/g sejtszámra) esetén tapasztaltunk. A 14. napra a sejtszám növekedése lassult a kontroll és 2%-os minta esetén, míg kismértékben növekedett a 0,5%-os, 1%-os és 1,5%-os mintáknál. A 21. napra a legnagyobb sejtszámot az 1%-os mintánál számoltuk, $8,16 \pm 0,01$ lg TKE/g volt, ezt követte a kontroll és 0,5%-os minta, mindkét esetben $7,97 \pm 0,01$ lg TKE/g sejtszámmal (30. ábra). A legkisebb növekedést a 2%-os minta produkálta, a kiindulási $7,31 \pm 0,08$ lg TKE/g sejtszámról, $7,8 \pm 0,00$ lg TKE/g

sejtszámra. A kétmintás t-próba az első leoltáskor a kontroll és 0,5%-os ($p=0,013$), a kontroll és 1%-os ($p=0,001$) minták között mutatott szignifikáns különbséget. A második leoltáskor a kontroll és 0,5%-os ($p=0,002$) minták között volt szignifikáns különbség, más esetben nem. A harmadik mintavétel napján a kontroll és 0,5%-os ($p=0,003$), a kontroll és 1%-os ($p<0,000$), a kontroll és 2%-os ($p=0,016$) minták esetén volt a sejtszámok között szignifikáns különbség. Az utolsó leoltáskor a kontroll és 1,5%-os ($p=0,001$), a kontroll és 1%-os ($p=0,003$), a kontroll és 2%-os ($p=0,010$) minták között volt a sejtszámokban a különbség szignifikáns.

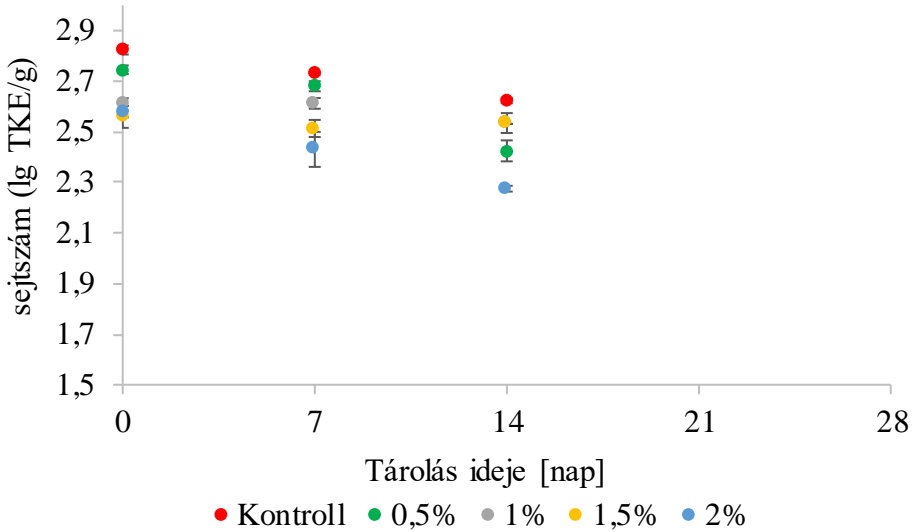


30. ábra: Összes telepképző egység számának változása szárított bazsalikkal kiegészített kolbász esetén

4.3. Illóolajokkal végzett vizsgálatok eredményei

4.3.1. Zsálya illóolajával kiegészített kolbász mikrobiológiai vizsgálat eredményei

A zsálya illóolajával végzett vizsgálat során a *Cl. perfringens* kiindulási sejtszáma meghaladta a visszautasítási határt (kontroll: $2,28 \pm 0,02$ lg TKE/g; 0,5%: $2,75 \pm 0,02$ lg TKE/g; 1%: $2,61 \pm 0,02$ lg TKE/g; 2,56 $\pm 0,04$ lg TKE/g; 2%: $2,58 \pm 0,02$ lg TKE/g), minden minta esetén. A sejtszám azonban minden mintavétellel csökkent, a 14. napig kis mértékben. A 31. ábrán látható, hogy az adalékolt minták esetén minden leoltáskor kisebb volt a sejtszám, a kontroll mintához képest. Ezáltal kismértékű gátlásról beszélhetünk. A 21. napon nem találtunk tipikus telepeket a lemezeken. Nem csak illóolajokat lehet alkalmazni gátlására, hanem egyéb kivonatok is. Ezt támasztják alá Omar et al. (2006) kísérletei is, amelyek során az általuk alkalmazott zsálya kivonatok 95,4–96,5%-ban gátolták a *Cl. perfringens* szaporodását táptalajon. Az első leoltáskor minden esetben szignifikáns különbséget tapasztaltunk ($p_{K-0,5\%}=0,019$; $p_{K-1\%}<0,000$; $p_{K-1,5\%}=0,018$; $p_{K-2\%}<0,000$). A második leoltáskor a kontroll és 0,5% -os minták közt nem volt, minden más esetben igen ($p_{K\%-1\%}=0,015$; $p_{K-1,5\%}=0,006$; $p_{K-2\%}=0,007$). A harmadik leoltáskor három esetben tapasztaltunk szignifikáns különbséget ($p_{K-0,5\%}=0,022$; $p_{K-1\%}=0,004$; $p_{K\%-1,5\%}=0,034$).



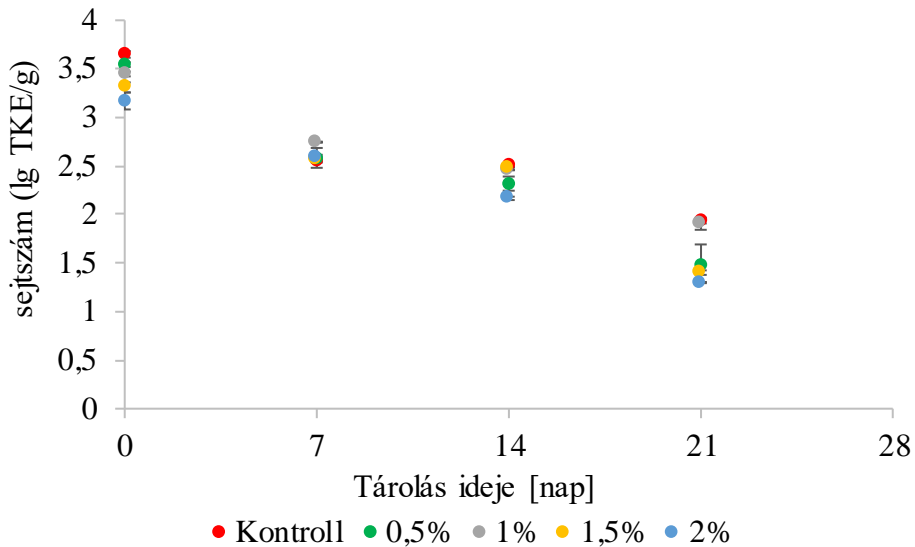
31. ábra: Zsálya illóolajának hatása a *Cl. perfringens* sejtszámára

Az első mintavételi napon találtunk tipikus *St. aureus* telepeket a mintákban (kontroll: $2,41 \pm 0,02$ lg TKE/g; 0,5%: $2,33 \pm 0,01$ lg TKE/g; 1%: $2,23 \pm 0,05$ lg TKE/g; 1,5%: $2,08 \pm 0,04$ lg TKE/G; 2%: $1,56 \pm 0,07$ lg TKE/g). A 2%-os minta esetén volt a legkisebb a sejtszám. Más kísérletek során (Khalil és Li, 2011) is a zsálya illóolaja már 10 perces behatási idő alatt is gátolta az *St. aureus* szaporodását 5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ -es koncentrációban, ami kísérletünk során e mennyiség többszörösét tartalmazták a minták. A t-próba szerint minden esetben szignifikáns volt a különbség ($p_{K-0,5\%}=0,038$; $p_{K-1\%}=0,011$; $p_{K-1,5\%}=0,001$; $p_{K-2\%}=0,002$).

A zsálya illóolaját tartalmazó minták csak az első leoltáskor voltak pozitívak *Salmonella*-ra, míg a kontroll kolbászban a 14. napon is találtunk tipikus telepeket a szelektív tenyésztés után.

A mintákban egyik leoltási napon sem találtunk tipikus *E. coli* telepeket.

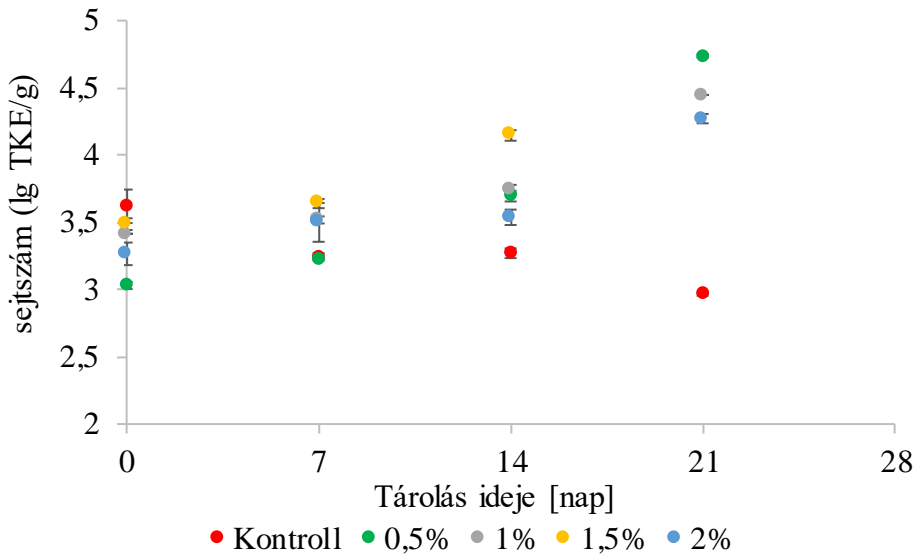
Kóliform esetén a kontroll mintának volt a legnagyobb a kiindulási sejtszáma, $3,65 \pm 0,03$ lg TKE/g, viszont a többi minta sem maradt el sokkal tőle (0,5%: $3,54 \pm 0,02$ lg TKE/g; 1%: $3,44 \pm 0,02$ lg TKE/g; 1,5%: $3,3 \pm 0,01$ lg TKE/g; 3,17 $\pm 0,09$ lg TKE/g). A sejtszámok fokozatosan csökkentek, a 7. és 14. napon néhány tizednyi különbség volt köztük. Jelentősebb különbség a 21. napon volt tapasztalható, ahogy a 32. ábrán is látható. A 21. napra a legnagyobb sejtszám a kontroll mintára ($1,94 \pm 0,03$ lg TKE/g), míg a legkisebb sejtszám a 2%-os mintára ($1,3 \pm 0,02$ lg TKE/g) volt jellemző. A legnagyobb sejtszámcsökkenést a 0,5%-os mintánál találtuk, 2,05 nagyságrendnyit. Petrová et al. (2013) 2 v/v%-ban adagoltak zsálya illóolajat vákuumsomagolt nyers csirkemellhez, a kóliform száma fokozatosan növekedett, szemben a mi vizsgálatunkkal, ahol fokozatosan csökkent ezen gáz és savtermelő indikátor mikroorganizmusok száma. Az első leoltáskor minden esetben szignifikáns különbséget találtunk ($p_{K-0,5\%}=0,003$; $p_{K-1\%}=0,003$; $p_{K-1,5\%}=0,006$; $p_{K-2\%}=0,004$). A második leoltáskor a kontroll és 1%-os ($p=0,014$) minták között volt szignifikáns a különbség a sejtszámokban, a többi esetben nem. A harmadik leoltáskor a kontroll és 2%-os ($p=0,003$) minták esetén volt szignifikáns a különbség. Az utolsó (21. nap) mintavételkor a kontroll és 1,5%-os ($p=0,045$), a kontroll és 2%-os ($p=0,001$) minták közötti különbség mondható szignifikánsnak.



32. ábra: Kóliformok sejtszámának változása a mintavételek során

Élesztő esetén a kontroll mintának volt a legnagyobb a kiindulási sejtszáma ($3,61 \pm 0,01$ lg TKE/g), míg a legkisebb a 0,5%-os mintának ($3,03 \pm 0,03$ lg TKE/g). A második (7. nap) leoltáskor a sejtszámok kissé emelkedtek, az 1,5%-os minta esetén volt e napon a legnagyobb a sejtszám ($3,48 \pm 0,05$ lg TKE/g), a legkisebb a 0,5%-os minta volt ($3,23 \pm 0,00$ lg TKE/g). A 14. napon a legnagyobb sejtszám szintén az 1,5%-os mintára volt jellemző ($3,64 \pm 0,04$ lg TKE/g). A 21. napon a 0,5%-os mintának volt a legnagyobb az élesztősejtszáma (33. ábra), $4,74 \pm 0,01$ lg TKE/g. A kontroll termékben a sejtszám fokozatosan csökkent, a kiindulási $3,62 \pm 0,01$ lg TKE/g sejtszámról, $2,96 \pm 0,01$ lg TKE/g sejtszámra. Alimoradian et al. (2021) vizsgálata azt igazolta, hogy a főtt kolbászokban a zsálya kivonatoknak köszönhetően (30, 40, 50, 60 mg/kg) az első 15 napban az élesztő telepek nem voltak számolhatók, míg a 30–45. napok között kevesebb volt, mint 100 TKE/g. A legkevesebb élesztősejtet a 40mg/kg minta esetén találták. Az első leoltáskor egy esetben sem tapasztaltunk

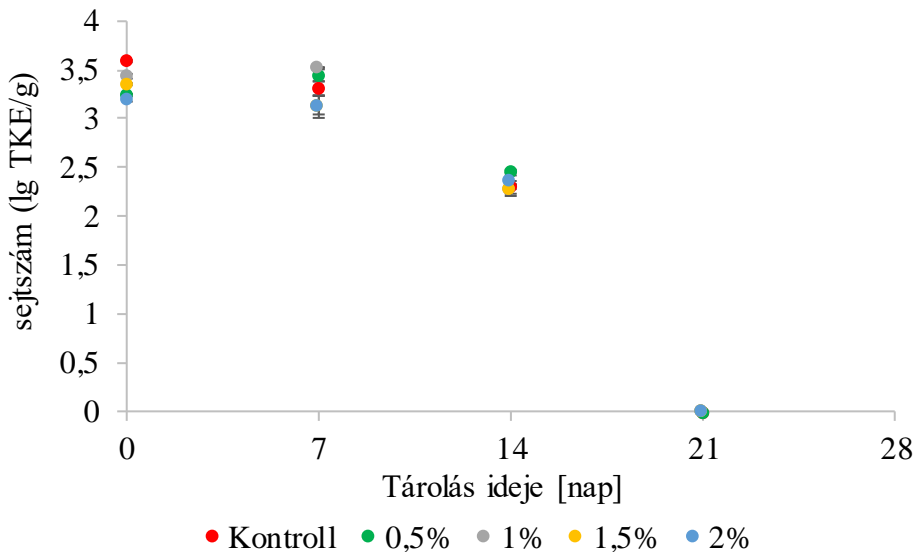
szignifikáns különbséget. A második leoltáskor a kontroll és 1,5%-os ($p=0,005$) minták között volt szignifikáns különbség. A harmadik leoltáskor minden esetben szignifikáns különbséget tapasztaltunk ($p_{K-0,5\%}<0,000$; $p_{K-1\%}<0,000$; $p_{K-1,5\%}=0,001$; $p_{K-2\%}=0,004$). Ez az utolsó leoltás esetén is elmondható ($p_{K-0,5\%}=0,025$; $p_{K-1\%}=0,001$; $p_{K-1,5\%}<0,000$; $p_{K-2\%}=0,001$).



33. ábra: Élesztő sejtszámának változása zsálya illóolajjal kiegészített kolbászminták esetén

Minden termék esetén találunk tipikus penész telepeket (34. ábra), a kontroll mintában volt a legnagyobb a számuk, $3,59\pm 0,01$ lg TKE/g. A 7. napon a 0,5%-os, 1%-os mintákban nőtt a sejtszám, a kontroll, 1,5%-os és 2%-os minták esetén csökkent a sejtszám. A 14. napon minden mintában csökkent a penészek száma, a legkisebb sejtszámot a kontroll mintánál tapasztaltuk, $2,32\pm 0,04$ lg TKE/g, míg a legnagyobbat a 0,5%-os minta esetén, $2,46\pm 0,01$ lg TKE/g. A 21. napon egyik minta esetén sem találtunk

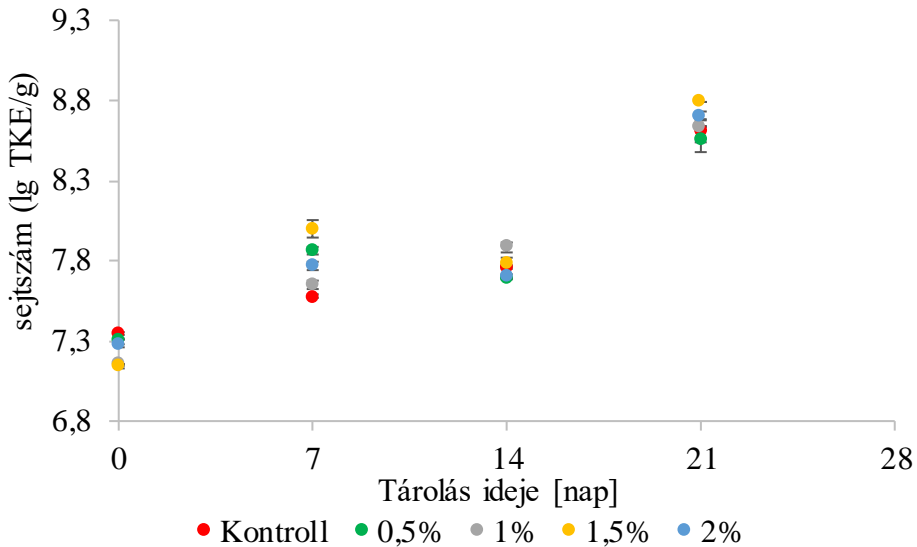
tipikus penész telepeket a lemezeken (34. ábra). A zsálya kivonatok adagolása 0,3 és 0,5%-ban is már jelentősen csökkentheti a penészsámot a vizsgált mintákban (Ali és Takwa, 2010.) Az első leoltáskor minden esetben szignifikáns különbséget tapasztaltunk ($p_{K-0,5\%}<0,000$; $p_{K-1\%}=0,017$; $p_{K-1,5\%}<0,000$; $p_{K-2\%}=0,001$). A második leoltás esetén a kontroll és 1,5%-os minták között nem, a többi esetben szignifikáns volt a sejtszámok között a különbség ($p_{K-0,5\%}=0,004$; $p_{K-1\%}=0,034$; $p_{K-2\%}=0,005$). A harmadik leoltáskor a kontroll és 0,5%-os ($p=0,049$), a kontroll és 1%-os ($p=0,003$) minták között volt szignifikáns a különbség.



34. ábra: Penészsám változása a zsálya illóolaj hatására

Az összes telepkepző egység kiindulási száma a kontroll mintában volt a legnagyobb ($7,34\pm 0,01$ lg TKE/g) míg a legkisebb az 1,5%-os mintában volt ($7,13\pm 0,05$ lg TKE/g). A 7. napra sejtszámnövekedést tapasztaltunk, minden minta esetében, a legnagyobb az 1,5%-os mintánál volt. Ezesetben a sejtszám $7,999\pm 0,03$ lg TKE/g-ra nőtt (35. ábra), mely 726%-os növekedésnek felel meg. A legkisebb mértékben a kontroll mintában

nőtt, $7,57 \pm 0,01$ lg TKE/g-ra. A 14. napra a 0,5%-os, az 1%-os és 1,5%-os mintában kismértékű sejtszámcsökkenést tapasztaltunk. Viszont a 21. napra minden esetben ugrásszerűen, nőtt a sejtszám, az 1,5%-os és 2%-os mintákban egy nagyságrendet, a kontroll (0,84 nagyságrend), 0,5%-os (0,87 nagyságrend) és 1%-os mintákban (0,75 nagyságrend) közel hasonló mértékben. A legnagyobb növekedést, a kiindulási sejtszámhoz viszonyítva, az 1,5%-os mintánál tapasztaltuk, a $7,13 \pm 0,05$ lg TKE/g sejtszám-ról, $8,79 \pm 0,02$ lg TKE/g sejtszámra. A legkisebb sejtszámnövekedést a 0,5%-os mintában volt, a végső sejtszám $8,55 \pm 0,08$ lg TKE/g volt. Más kísérletek ellentétes eredményeket igazoltak, amely szerint a hozzáadott zsálya illóolaj fermentált kolbászok esetén összes telepkepző egység szám csökkentő hatással bírhat (Šojić et al., 2021). Az első leoltás esetén minden esetben szignifikáns különbséget tapasztaltunk ($p_{K-0,5\%}=0,045$; $p_{K-1\%}=0,010$; $p_{K-1,5\%}=0,027$; $p_{K-2\%}=0,018$). A második leoltáskor szintén minden összehasonlított minta esetén szignifikáns volt a különbség ($p_{K-0,5\%}=0,005$; $p_{K-1\%}=0,018$; $p_{K-1,5\%}=0,001$; $p_{K-2\%}=0,013$). A harmadik mintavételkor a kontroll és 1,5%-os minták között nem volt jelentős a különbség, míg a többi esetben szignifikáns volt ($p_{K-0,5\%}=0,007$; $p_{K-1\%}=0,002$; $p_{K-2\%}=0,007$). A 21. napi leoltáskor a minták felénél volt szignifikáns különbség a sejtszámban ($p_{K-0,5\%}=0,010$; $p_{K-1,5\%}=0,025$).

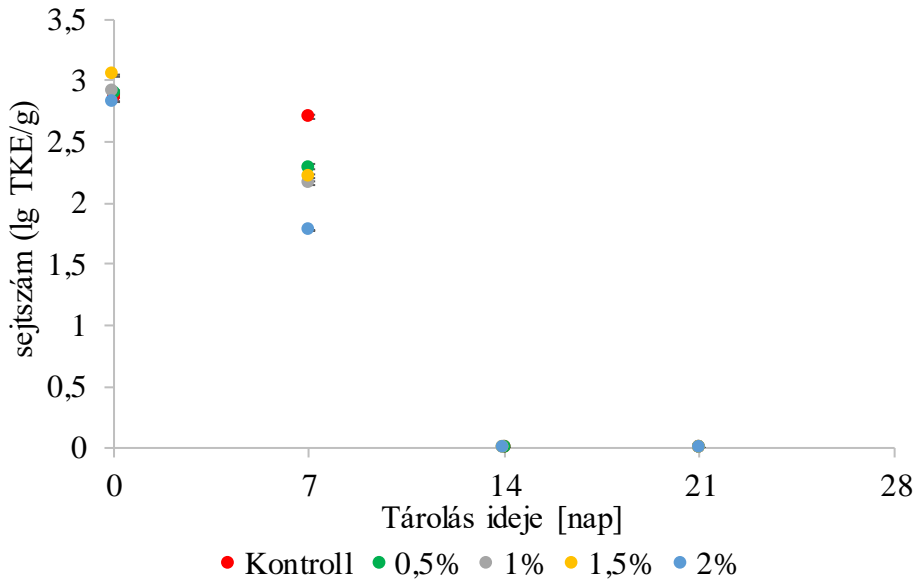


35. ábra: Összes telepképző egység számának változása a kontroll, valamint a zsálya illóolaját tartalmazó mintákban

4.3.2. Oregánó illóolajával kiegészített kolbász mikrobiológiai vizsgálat eredményei

Oregánó illóolaj vizsgálata során a 14. és 21. vizsgálati napokon nem találtunk tipikus *Cl. perfringens* telepeket a lemezeken. Az első leoltás alkalmával az 1,5%-os mintában volt a legnagyobb a sejtszám, $3,04 \pm 0,01$ lg TKE/g. A 7. napon az első leoltáshoz képest a kontroll mintában csökkent legkevésbé a sejtszám (36. ábra), a kiindulási $2,88 \pm 0,01$ lg TKE/g-ról, $2,07 \pm 0,02$ lg TKE/g-ra. A legnagyobb csökkenést a 2%-os mintánál tapasztaltuk, a kiindulási $2,83 \pm 0,00$ lg TKE/g sejtszámról, $1,78 \pm 0,00$ lg TKE/g sejtszámra. Ennél a termékénél csökkent egyedül a sejtszám a 4/1998 EüM rendelet által meghatározott visszautasítási határ alá. Ezzel igazoltuk az oregánó illóolaj gátló hatását a *Cl. perfringens*-sel szemben, valamint kimutattuk, hogy az adagolási koncentráció növelése pozitívan befolyásolja az eredményeinket. Ezt igazolja Juneja és Friedman (2007)

kísérletei is, amelyek alapján a 2%-os oregánó illóolajjal történő kiegészítés gátolhatja a spórákat. Az első leoltáskor a kétmintás t-próba szerint minden esetben volt szignifikáns a különbség ($p_{K\%-0,5\%}=0,012$; $p_{K-1\%}=0,045$; $p_{K-1,5\%}<0,000$; $p_{K-2\%}=0,042$). A második leoltás esetén is minden esetben szignifikáns különbséget tapasztaltunk ($p_{K-0,5\%}=0,003$; $p_{K-1\%}=0,004$; $p_{K\%-1,5\%}=0,001$; $p_{K-2\%}<0,000$).



36. ábra: *Cl. perfringens* sejtszámok változása

St. aureus az első leoltásnál mindegyik mintában előfordult, a második leoltásra viszont csak a kontroll mintában (kiindulási sejtszám: $2,35\pm 0,03$ lg TKE/g; 7. nap: $2,07\pm 0,02$ lg TKE/g) volt. A harmadik (14. nap) mintavétel során viszont egyik mintában sem mutattuk ki. *St. aureus* esetében más kísérletek igazolták, ahol marhahúsból készült húsgolyók esetén az 1%, és 2% oregánó illóolaj adagolása gátolta az *St. aureus* szaporodást, viszont a termék íze esetén a 0,5% még kellemes hatással bírt (Pesavento et al., 2015). Az első leoltáskor a kontroll és 0,5%-os

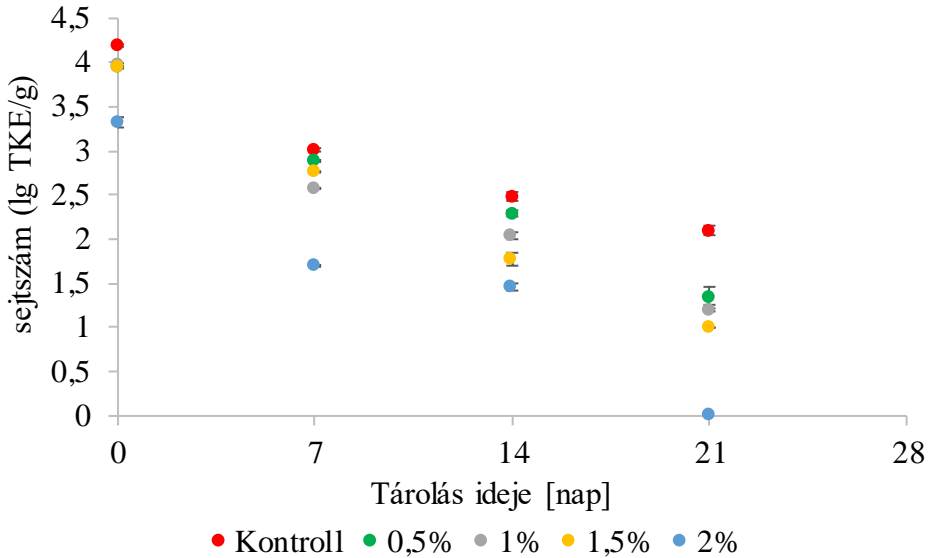
($p < 0,000$), a kontroll és 1%-os ($p = 0,022$) minták között szignifikáns volt a különbség.

Az illóolajat tartalmazó minták a 0,5%-os minta kivételével, a 7. napig voltak pozitívak *Salmonella*-ra, a kontroll minta a 14. napon is.

E. coli egyik mintában sem fordult elő.

Kóliform esetén a kiindulási első leoltásnál a kontroll mintában volt a legnagyobb a sejtszám, $4,19 \pm 0,01$ lg TKE/g. A legkisebb a 2%-os minta sejtszáma volt, $3,3 \pm 0,06$ lg TKE/g. A leoltás előrehaladtával a sejtszámok a 7. napra ugrásszerűen, utána fokozatosan csökkentek. A kontroll mintában csökkent legkevésbé a sejtszám, míg a legjelentősebben a 2%-os mintában, a 21. napon nem találtunk tipikus kóliform telepeket (37. ábra). Ezesetben a koncentráció növelésével látható volt az oregánó illóolaj hatása. A nagyobb koncentráció nagyobb mikrobagátló hatással bírt. Más kísérletek során igazolták azt is, hogy a húsok bevonatolására alkalmas ehető filmet is ki lehet egészíteni oregánó illóolajjal, amely csökkentheti a kóliformszámot (Emiroğlu et al., 2010). A kontroll minta sejtszáma a 21. napon $2,1 \pm 0,05$ lg TKE/g volt. Az első leoltáskor a kétmintás t-próba alapján szignifikáns különbség minden esetben ($p_{K-0,5\%} = 0,001$; $p_{K-1\%} < 0,000$; $p_{K-1,5\%} = 0,001$; $p_{K-2\%} = 0,002$).

A második leoltáskor is ($p_{K-0,5\%} = 0,001$; $p_{K-1\%} = 0,001$; $p_{K-1,5\%} = 0,004$; $p_{K-2\%} < 0,000$) és harmadik leoltáskor is ($p_{K-0,5\%} = 0,048$; $p_{K-1\%} = 0,013$; $p_{K-1,5\%} = 0,010$; $p_{K-2\%} = 0,050$) minden esetben szignifikáns különbséget találtunk az összehasonlított minták sejtszámai között, mely a 21. napon is elmondható volt ($p_{K-0,5\%} = 0,014$; $p_{K-1\%} = 0,019$; $p_{K-1,5\%} = 0,001$; $p_{K-2\%} < 0,000$).

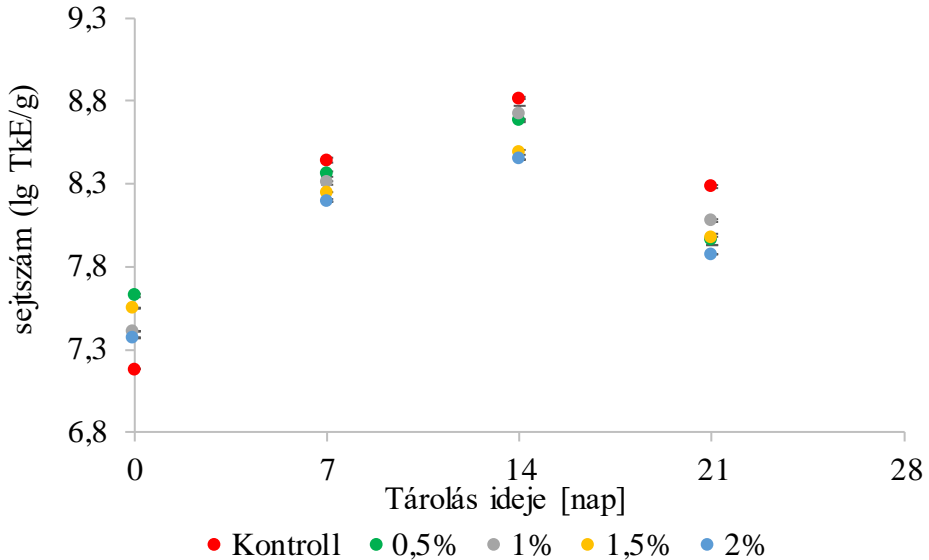


37. ábra: Kóliform sejtszámok a kontroll és az oregánó illóolajával kiegészített mintákban

Élesztő esetén a kontroll mintán kívül minden mintánál csak az első leoltáskor találtunk (0,5: $3,77 \pm 0,04$ lg TKE/g; 1%: $3,7 \pm 0,01$ lg TKE/g; 1,5%: $3,55 \pm 0,04$ lg TKE/g; 2%: $3,11 \pm 0,03$ lg TKE/g) élesztőtelepeket a lemezekben. A második leoltáskor csak a kontroll lemezekben ($2,11 \pm 0,07$ lg TKE/g) nőttek telepek, akárcsak a harmadik leoltáskor ($1,98 \pm 0,03$ lg TKE/g). Érelt kolbászok felületének kezelésekor az élesztőre nem volt hatással az oregánó illóolaja Chaves-López et al (2012) kísérletei során. Az első leoltáskor a kontroll és 1%-os ($p=0,002$), a kontroll és 1,5%-os ($p=0,009$), a kontroll és 2%-os ($p=0,001$) minták között volt szignifikáns a különbség.

Az oregánó illóolajjal kiegészített, illetve a kontroll minták lemezein nem találtunk penész telepeket.

Az összes telepkepző egység száma a 14. napig fokozatosan emelkedett, majd a 21. napra lecsökkent a 7. napon mért telepszám alá. Az első leoltáskor a legnagyobb csíraszám a 0,5%-os minta ($7,63 \pm 0,01$ lg TKE/g) esetében volt, míg a kontroll mintában ($7,18 \pm 0,00$ lg TKE/g) volt. A 7. napra a legnagyobb sejtszám a kontroll mintát jellemezte ($8,44 \pm 0,01$ lg TKE/g), mely a többi leoltáskor is elmondható volt (38. ábra) (14. nap: $8,82 \pm 0,01$ lg TKE/g; 20. nap: $8,28 \pm 0,01$ lg TKE/g). A legkisebb sejtszámmal a 2%-os minta rendelkezett a 7. ($8,19 \pm 0,03$ lg TKE/g), 14. ($8,45 \pm 0,02$ lg TKE/g) és 21. napon ($7,87 \pm 0,04$ lg TKE/g). A kiindulási és a 21. napon mért sejtszámok között a kontroll minta esetén volt a legnagyobb a sejtszámkülönbség ($1,1 \pm 0,01$ lg TKE/g), míg a legkisebb a 0,5%-os minta esetén ($0,34 \pm 0,02$ lg TKE/g). Érelt kolbászok esetén, az első hét napon az oregánó illóolaja nem gátolta az összes telepkepző egység számának változását, míg a 28. napig fokozatosan csökkent a szám, kis mértékben el Adab és Hassouna (2016) kísérlete során. A mi vizsgálatunk esetén a 14. napig történt emelkedés a sejtszámban, majd az utolsó, 21. napos leoltáskor kis mértékű csökkenés. Az első leoltáskor minden esetben szignifikáns különbséget találtunk a sejtszámok között ($p_{K\%-0,5\%} < 0,000$; $p_{K-1\%} < 0,000$; $p_{K-1,5\%} < 0,000$; $p_{K-2\%} < 0,000$). A 7. napon szintén minden esetben szignifikáns volt a különbség ($p_{K\%-0,5\%} = 0,042$; $p_{K-1\%} = 0,011$; $p_{K-1,5\%} < 0,000$; $p_{K-2\%} = 0,001$). A harmadik leoltáskor a kontroll és 1%-os minták esetén nem volt szignifikáns különbség, a többi minta esetén igen ($p_{K\%-0,5\%} < 0,000$; $p_{K-1,5\%} = 0,001$; $p_{K-2\%} = 0,001$). A 21. napon minden esetben szignifikáns különbséget figyeltünk meg ($p_{K-0,5\%} = 0,002$; $p_{K-1\%} < 0,000$; $p_{K\%-1,5\%} < 0,000$; $p_{K-2\%} = 0,006$).

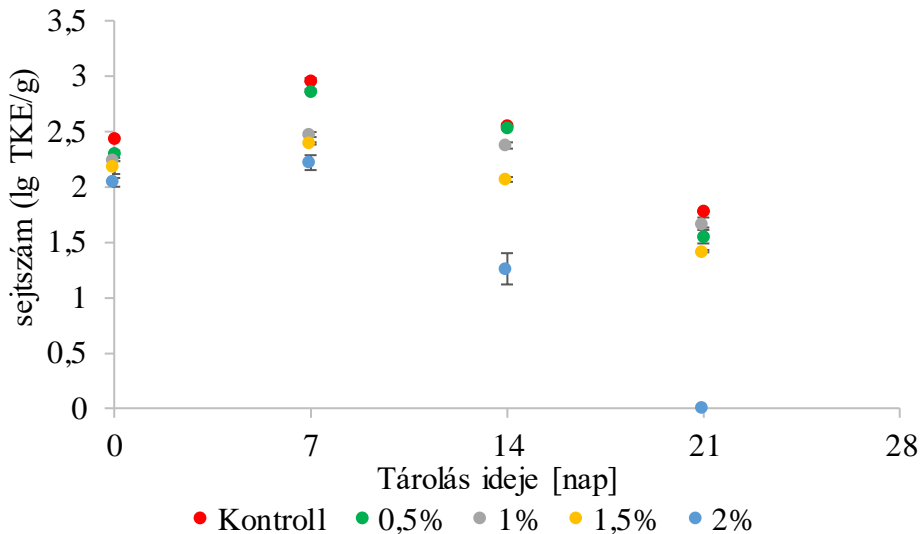


38. ábra: Összes telepképző egység számának változása az oregánó illóolajjal kiegészített minták esetén

4.3.3. Kakukkfű illóolajával kiegészített kolbász mikrobiológiai vizsgálat eredményei

A kakukkfű illóolajával kiegészített minta esetén a visszautasítási határhoz a 2%-os minta *Cl. perfringens* száma volt a legközelebb, $2,04 \pm 0,04$ lg TKE/g sejtszámmal. A vizsgálat során, ahogy a 34. ábrán is látszik, a kontroll mintában volt a legnagyobb a sejtszám. A 7. napra a minták *Cl. perfringens* száma nőtt, a kontroll esetén volt a legnagyobb a növekedés, míg a 2%-os minta esetén a legkisebb (39. ábra). A 14. napon és 21. napon csökkenést tapasztaltunk, a kontroll esetén volt a legnagyobb a sejtszám ($1,78 \pm 0,00$ lg TKE/g), míg a legkisebb a 2%-os mintában ($1,25 \pm 0,01$ lg TKE/g). A 21. napra a 2%-os mintában nem találtunk tipikus *Cl. perfringens* telepeket. Bizonyos szakirodalmi kutatások alapján elmondható, hogy a kakukkfű illóolaja kifejezetten hatékony *Cl. perfringens* ellen (Radelli et al., 2016; Eid et al., 2018). Az első leoltáskor minden az

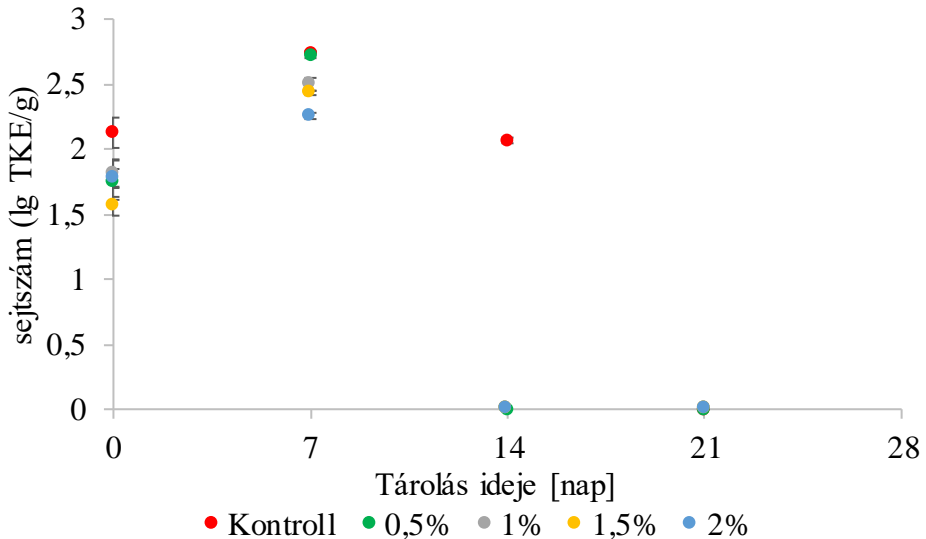
összehasonlított minta esetén szignifikáns különbséget tapasztaltunk ($p_{K\%-0,5\%}=0,007$; $p_{K-1\%}=0,004$; $p_{K-1,5\%}=0,020$; $p_{K-2\%}=0,005$). A második leoltáskor is minden esetben szignifikáns volt a különbség, a többi esetben igen ($p_{K\%-0,5\%}=0,001$; $p_{K-1\%}<0,000$; $p_{K-1,5\%}=0,001$; $p_{K-2\%}=0,002$). A harmadik leoltáskor a kontroll és 0,5%-os minták között nem volt tapasztalható jelentős különbség, a többi minta összehasonlításakor igen ($p_{K-1\%}=0,003$; $p_{K-1,5\%}=0,001$; $p_{K-2\%}=0,010$). A negyedik (28. nap) leoltáskor a kontroll és 1% -os minták kivételével minden esetben szignifikáns különbséget tapasztaltunk ($p_{K\%-0,5\%}=0,035$; $p_{K-1,5\%}=0,026$; $p_{K-2\%}=0,008$).



39. ábra: Kakukkfű illóolajának hatása a *Cl. perfringens* sejtszámára

St. aureus tipikus teleket az illóolajjal kiegészített minták esetén az első és a 7. napon történő leoltáskor találtunk, míg a kontroll mintában a 14. napon is volt *St. aureus* aktivitás. Végig a kontroll mintában volt a legnagyobb a sejtszám, a kiindulási $2,12 \pm 0,01$ lg TKE/g volt. Az első mintavételkor az 1,5%-os mintában volt a legkisebb a sejtszám (40. ábra),

1,56±0,07 lg TKE/g. A 7. napra minden mintában nőtt a sejtszám, a legnagyobb mértékben a 0,5%-os mintában, a kiindulási sejtszám 1,76±0,02 lg TKE/g volt, míg a 7. napon 2,72±0,02 lg TKE/g volt. A kontroll mintában a sejtszám a 14. napon 2,067±0,02 lg TKE/g volt. A 21. napon egyik mintában sem mutattunk ki *St. aureus* telepeket. Lages et al. (2021) kutatásai alapján kakukkfű illóolaja 0,95%, 0,0095% és 0,00095%-ban is alkalmas koaguláz pozitív *St. aureus* ellen. Az első leoltáskor a kontroll és 0,5%-os ($p=0,003$), a kontroll és 1,5%-os ($p=0,032$), a kontroll és 2%-os ($p=0,005$) minták között volt szignifikáns a különbség. A második leoltáskor a kontroll és 0,5%-os minták között nem volt számottevő különbség, a többi minta esetén tapasztalt különbség szignifikáns volt ($p_{K-1\%}=0,011$; $p_{K-1,5\%}=0,002$; $p_{K-2\%}<0,000$).

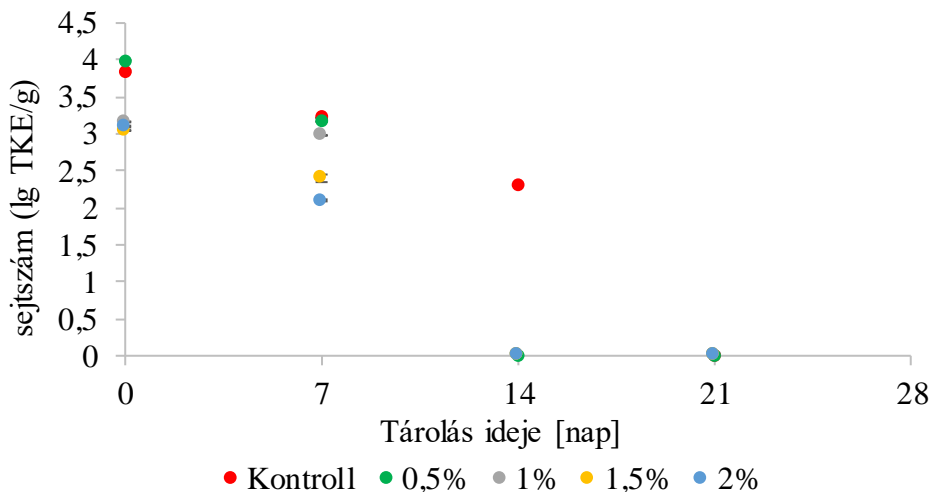


40. ábra: *St. aureus* sejtszám változása kakukkfű illóolaját tartalmazó mintákban

A kontroll, a 0,5%-os és 1,5%-os minta a 7. napon is tartalmazott *Salmonella*-t, míg az 1%-os és 2%-os csak az első leoltás napján.

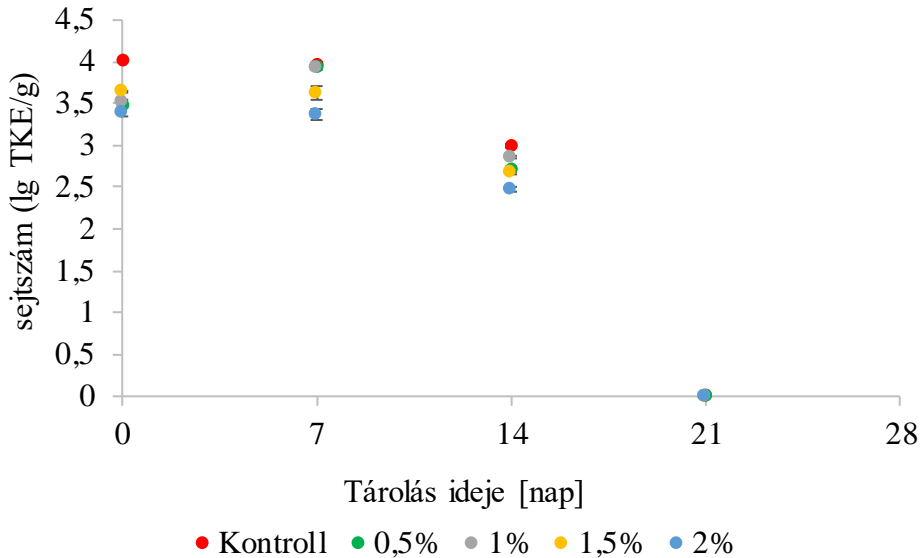
A minták egyikében sem találtunk tipikus *E. coli* telepeket.

Kóliform esetén a legnagyobb kiindulási sejtszám a 0,5%-os mintában volt, $3,996 \pm 0,00$ lg TKE/g, míg a legkisebb az 1,5%-os mintában, $3,04 \pm 0,02$ lg TKE/g. A 7. napra csökkent minden mintában a sejtszám (41. ábra), a legkevésbé a kontrollban ($3,21 \pm 0,02$ lg TKE/g) és a 0,5%-os mintában ($3,17$ lg TKE/g). Míg a 2%-os mintában csökkent a legnagyobb mértékben, $3,1 \pm 0,04$ lg TKE/g értékről, $2,1 \pm 0,06$ lg TKE/g sejtszámra. A 14. napon a kontroll minta sejtszáma $2,3 \pm 0,00$ lg TKE/g volt, viszont a 21. napon már nem találtunk tipikus kóliform teleket a termékekben. Wafy et al. (2019) kísérletei alapján az 1,5%-ban adagolt kakukkfű illóolaj bír a leghatékonyabb sejtszámcsökkentő hatással kóliformok esetén. Az első leoltáskor minden esetben szignifikáns volt a különbség a kiindulási sejtszámok között ($p_{K-0,5\%} < 0,000$; $p_{K-1\%} < 0,000$; $p_{K-1,5\%} < 0,000$; $p_{K-2\%} = 0,001$). A 7. napon történő leoltáskor jelentős különbséget csak a kontroll és 0,5%-os minták között nem tapasztaltunk, minden más minta összehasonlításakor igen ($p_{K-1\%} = 0,010$; $p_{K-1,5\%} = 0,001$; $p_{K-2\%} < 0,000$).



41. ábra: Kakukkfű illóolajjal kiegészített és a kontroll minta kóliform sejtszámainak változása

Élesztő esetén az első, a 7. napon és a 14. napon volt élesztő a termékben, a 21. napon nem mutattunk ki. Mindhárom mintavételi napon a kontroll termékben volt a legnagyobb a sejtszám, az első napon $4,02 \pm 0,02$ lg TKE/g, mely a 14. napra $2,995 \pm 0,02$ lg TKE/g sejtszámra csökkent. A legkisebb sejtszám, mindhárom leoltáskor, a 2%-os mintára volt jellemző (42. ábra), melynél a kiindulási $3,4 \pm 0,05$ lg TKE/g sejtszám a 14. napra $2,47 \pm 0,03$ lg TKE/g-ra csökkent. Quesada et al. (2016) vizsgálatuk során 0,5%, 1% és 2%-ban adagoltak kakukkfű illóolajat, esetükben minden esetben nőtt az élesztő sejtszáma az általuk vizsgált termékekben. Giatakou et al. (2010) vizsgálataik során 0,2%-ban adagoltak fogyasztásra kész termékekhez kakukkfű illóolajat, mely nem befolyásolta az élesztősejtszámot. Az első leoltáskor minden esetben szignifikáns különbséget tapasztaltunk ($p_{K-0,5\%}=0,001$; $p_{K-1\%}<0,000$; $p_{K\%-1,5\%}<0,000$; $p_{K-2\%}=0,005$). A második leoltásra kismértékben változott, szignifikáns különbséget a kontroll és 1,5%-os ($p=0,028$), a kontroll és 2%-os ($p=0,002$) minták esetén tapasztaltunk. A harmadik leoltáskor minden esetben szignifikáns volt a különbség ($p_{K\%-0,5\%}=0,013$; $p_{K-1\%}=0,001$; $p_{K-1,5\%}<0,000$; $p_{K-2\%}=0,003$).

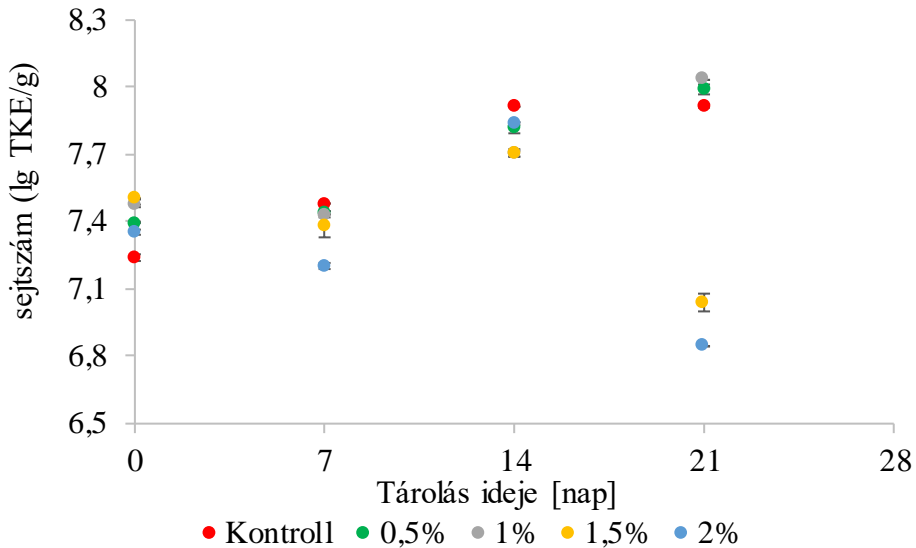


42. ábra: A minták élesztőszámának alakulása

A kakukkfű illóolajával kiegészített mintákban az első és a 7. napon történő leoltáskor találtunk tipikus penész telepeket. Minkét mintavételi napon a kontroll mintában volt a legnagyobb a sejtszám, az első esetén $2,63 \pm 0,02$ lg TKE/g, míg a 7. napon $2,27 \pm 0,07$ lg TKE/g. Az első napon az 1,5%-os mintában ($2,44 \pm 0,02$ lg TKE/g) volt a legkisebb a sejtszám, míg a 7. napon a 2%-os mintában ($2,02 \pm 0,06$ lg TKE/g). A legnagyobb sejtszámcsökkenést az 1%-os mintánál tapasztaltuk, 0,62 nagyságrendnyit. Az első leoltáskor a minták felénél tapasztaltunk szignifikáns különbséget ($p_{K-1,5\%}=0,008$; $p_{K-2\%}=0,003$). A második leoltáskor a kontroll, 0,5%-os ($p<0,000$), a kontroll és 1%-os ($p=0,013$), a kontroll és 1,5%-os ($p=0,001$) minták között volt szignifikáns a különbség.

Az összes telepkepző egység vizsgálata esetén az első mintavétel napján a kontroll mintában volt a legkisebb a kiindulási sejtszám, $7,24 \pm 0,01$ lg TKE/g, míg a legnagyobb az 1,5%-os kolbászmintában,

7,5±0,00 lg TKE/g. A sejtszámok a 7. napra kismértékben változtak, a legnagyobb növekedést a kontroll mintánál tapasztaltuk (7,48±0,00 lg TKE/g). A 2%-os, 1,5%-os és 1%-os mintákban a sejtszám kismértékben csökkent (43. ábra). A 14. napra minden mintában emelkedett a sejtszám, a 2%-os mintában volt a legnagyobb a növekedés (7,84±0,00 lg TKE/g), míg a legnagyobb sejtszám a kontroll mintában volt (7,913±0,00 lg TKE/g). A 21. napra a 2%-os (6,8±0,00 lg TKE/g) és 1,5%-os (7,04±0,04 lg TKE/g) mintákban csökkent a sejtszám, a kontroll esetén nem változott, míg az 1%-os (8,03±0,00 lg TKE/g) és 0,5%-os (7,99±0,02 lg TKE/g) mintákban tovább nőtt. Marhahúsból készült hamburgerpogácsák kakukkfű illóolajokkal történő kiegészítése (0,3%, 0,6%, 0,9%) nem volt hatással az összes telepképző egység számra (Boskovic et al., 2017). Az első leoltás-kor minden esetben szignifikáns volt a különbség a minták között ($p_{K-0,5\%}=0,002$; $p_{K-1\%}=0,001$; $p_{K-1,5\%}=0,001$; $p_{K-2\%}<0,000$). A második esetben a kontroll és 1,5%-os minták közötti különbség nem volt szignifikáns, míg a többi esetben az volt ($p_{K-0,5\%}<0,000$; $p_{K-1\%}=0,003$; $p_{K-2\%}=0,001$). A harmadik leoltás esetén minden esetben szignifikáns volt a különbség ($p_{K-0,5\%}=0,021$; $p_{K-1\%}=0,002$; $p_{K-1,5\%}=0,001$; $p_{K-2\%}=0,002$). Az utolsó (21. nap) leoltáskor a kontroll és 0,5%-os minták között nem, a többi esetben a különbség szignifikáns volt ($p_{K-1\%}=0,002$; $p_{K-1,5\%}=0,001$; $p_{K-2\%}<0,000$).

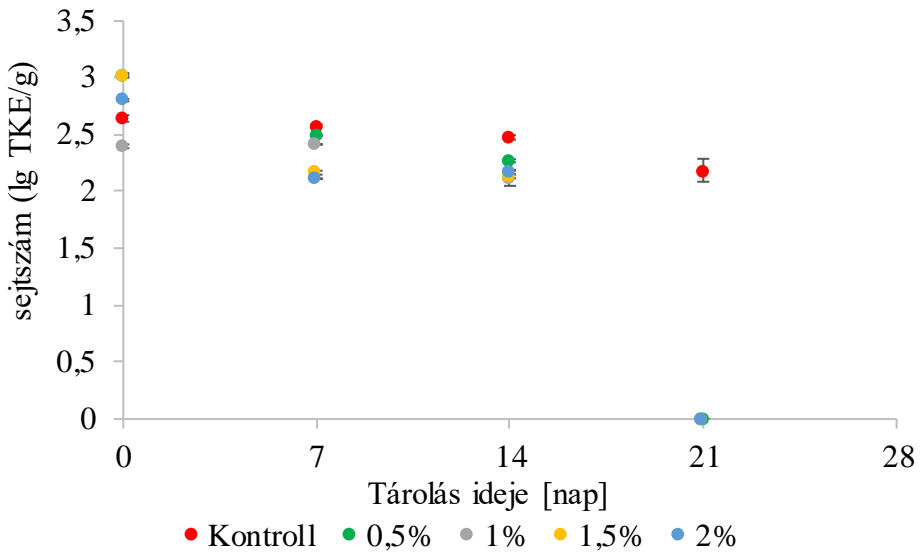


43. ábra: Összes telepképző egység számának változása a kakukkfű illóolajával kiegészített, valamint a kontroll minta esetén

4.3.4. Rozmaring illóolajával kiegészített kolbász mikrobiológiai vizsgálat eredményei

Cl. perfringens esetén a sejtszámok a mintavétel előrehaladtával csökkentek, a 21. napon a kontroll minta kivételével nem tartalmaztak a minták tipikus *Cl. perfringens* telepeket (44. ábra). Az első leoltáskor a legnagyobb kiindulási sejtszáma az 1,5%-os mintának volt ($3,02 \pm 0,02$ lg TKE/g). A 7. napon a kontroll mintában volt a legnagyobb a sejtszám ($2,47 \pm 0,02$ lg TKE/g), a kiindulási számhoz ($2,58 \pm 0,01$ lg TKE/g) képest kismértékű csökkenést tapasztaltunk. A 14. napon a sejtszámok tovább csökkentek, ismét csak kismértékben. A 21. napon csak a kontroll mintában találtunk tipikus *Cl. perfringens* telepeket. Az első leoltáskor a kontroll és 0,5%-os ($p < 0,000$), a kontroll és 1,5%-os ($p = 0,003$), a kontroll és 2%-os ($p = 0,005$) minták között szignifikáns volt a különbség. A második leoltáskor minden mintaösszehasonlítás esetén szignifikáns különbséget

tapasztaltunk ($p_{K\%-0,5\%}=0,006$; $p_{K-1\%}=0,001$; $p_{K-1,5\%}<0,000$; $p_{K-2\%}<0,000$). A harmadik leoltáskor is minden esetben szignifikáns különbséget tapasztaltunk ($p_{K\%-0,5\%}<0,000$; $p_{K-1\%}=0,010$; $p_{K-1,5\%}=0,002$; $p_{K-2\%}<0,000$).



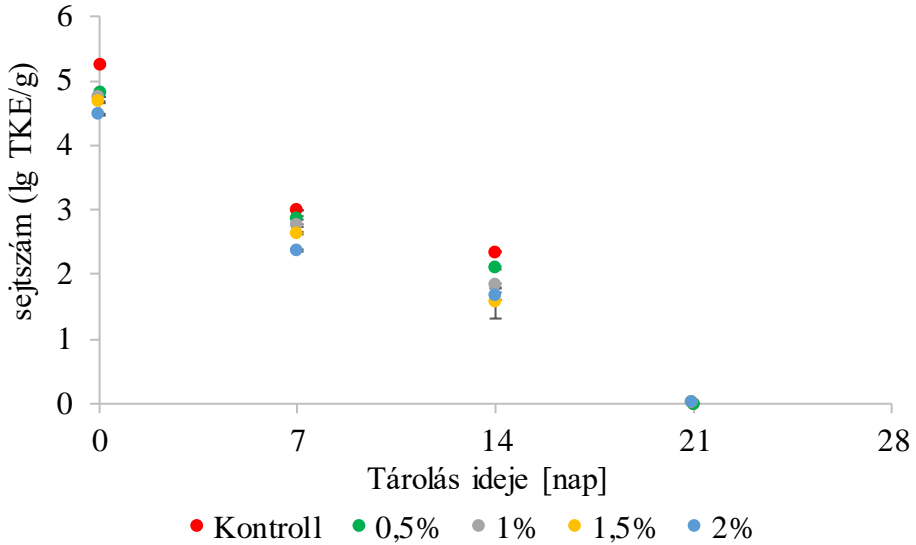
44. ábra: *Cl. perfringens* sejtszámának változása a kontroll és a rozmarying illóolajával kiegészített mintákban

St. aureus esetén a kiindulási sejtszám a 0,5%-os mintában volt a legnagyobb, $2,64\pm 0,01$ lg TKE/g, míg a legkisebb az 1,5%-os mintában ($2,04\pm 0,04$ lg TKE/g). A 7. napon a 2%-os mintában nem találtunk tipikus *St. aureus* telepeket. A többi minta esetén csökkenést tapasztaltunk. A 14. napon egyik mintában nem mutattunk ki *St. aureus* telepeket. Az első leoltáskor a kontroll és 1%-os ($p=0,001$), a kontroll és 1,5%-os ($p<0,000$) minták között szignifikáns különbség volt. A második leoltáskor minden esetben szignifikáns különbséget találtunk ($p_{K\%-0,5\%}=0,021$; $p_{K-1\%}=0,011$; $p_{K-1,5\%}=0,024$; $p_{K-2\%}=0,001$).

Salmonella a kontroll mintában a 14. napig volt jelen, a 0,5%-os mintában a 7. napig, a többi minta esetén csak az első leoltáskor.

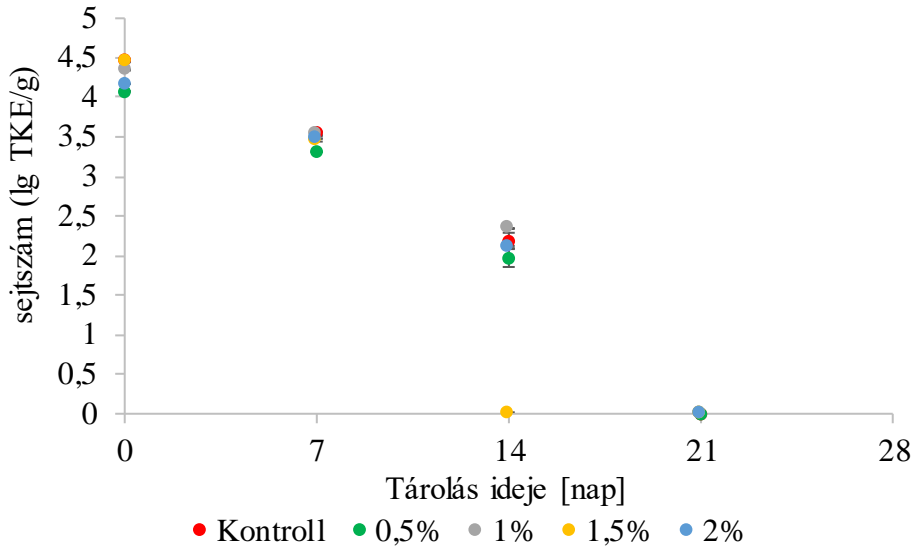
Egyik mintavétel alkalmával sem találtunk tipikus *E. coli* telepeket a mintákban.

Kóliform vizsgálatok az első leoltáskor a kontroll mintában volt a legnagyobb a sejtszám ($5,24 \pm 0,01$ lg TKE/g), a legkisebb a 2%-os mintában ($4,48$ lg TKE/g). A sejtszámok csökkentek minden leoltás esetén, a 21. napon nem találtunk tipikus kóliform telepeket a lemezeken (45. ábra). Minden mintavétel alkalmával a kontroll mintában volt a legnagyobb a sejtszám, míg a legkisebb a 2%-os mintában, kivétel a 14. nap, mikor az 1,5%-os minta esetén volt a legkisebb a sejtszám, $1,56 \pm 0,24$ lg TKE/g. Hűtött darált marhahúsban a kontroll, illóolajat nem tartalmazó mintákban gyorsabban, míg az rozmaring illóolajjal kiegészített mintákban lassabban nőhet a kóliform sejtszáma (El-Desouky et al., 2006). Az első leoltás alkalmával minden összehasonlításkor a kétmintás t-próba szerint szignifikáns volt a különbség a sejtszámokban ($p_{K\%-0,5\%} < 0,000$; $p_{K-1\%} < 0,000$; $p_{K-1,5\%} < 0,000$; $p_{K-2\%} < 0,000$). Ez a 7. napon történő leoltásra is elmondható ($p_{K\%-0,5\%} = 0,019$; $p_{K-1\%} = 0,002$; $p_{K-1,5\%} = 0,001$; $p_{K-2\%} < 0,000$), illetve a harmadik, 14. napon történő leoltás esetén is ($p_{K\%-0,5\%} = 0,004$; $p_{K-1\%} = 0,002$; $p_{K-1,5\%} = 0,027$; $p_{K-2\%} = 0,003$).



45. ábra: Kóliform sejtszámok változása

Rozmaring illóolajával kiegészített mintákban, illetve a kontroll termékben is, az élesztők sejtszáma fokozatosan csökkent. A 21. napon nem találtunk élesztőtelepeket a lemezeken, illetve az 1,5%-os minta esetén már a 14. napon sem találtunk. A legnagyobb csökkenést a kontroll minta esetén tapasztaltunk, a kiindulási sejtszáma $4,47 \pm 0,02$ lg TKE/g volt, mely lecsökkent a kimutatási határ alá a 21. npra (46. ábra). A legkisebb csökkenést a 0,5%-is mintánál tapasztaltuk, mivel e minta esetén volt a legkisebb a kiindulási sejtszám, $4,07 \pm 0,00$ lg TKE/g. Az első leoltáskor a kontroll és 1,5%-os minták között nem volt szignifikáns a különbség, a többi minta esetén igen ($p_{K-0,5\%}=0,001$; $p_{K-1\%}=0,002$; $p_{K-2\%}=0,001$). A második leoltás esetén a kontroll és 0,5%-os ($p=0,003$), illetve a kontroll és 1,5%-os ($p=0,023$) minták között volt szignifikáns a különbség. A 14. napon egyedül a kontroll és 0,5%-os ($p=0,003$) minták között volt szignifikáns különbség, a többi minta esetén nem.

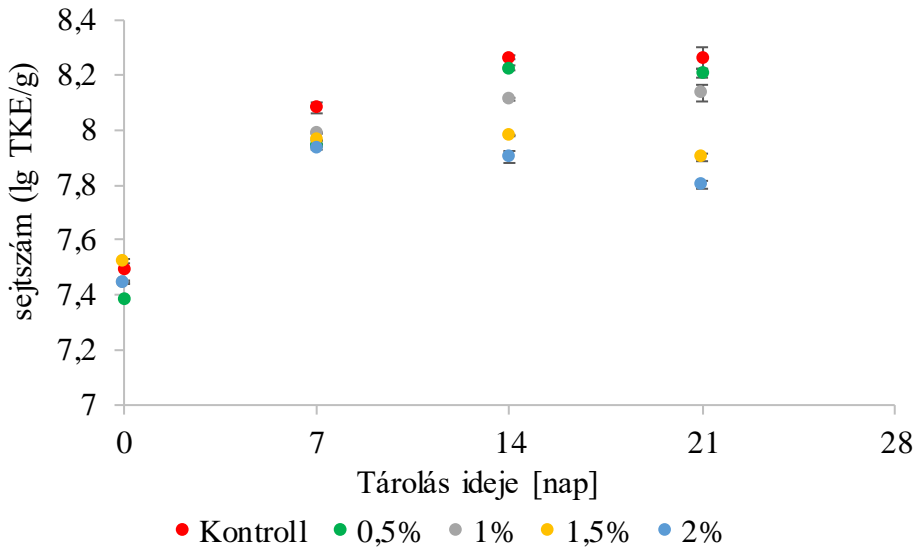


46. ábra: Élesztő számának változása rozmaring illóolajával kiegészített kolbászmintákban és a kontroll termékben

A mintákban az első és a 7. napon történő mintavételkor találtunk tipikus penésztelepeket, melyeket a 14. és 21. napon már nem mutattunk ki. A legnagyobb kiindulási sejtszámmal az 1,5%-os minta rendelkezett, $2,86 \pm 0,01$ lg TKE/g (kontroll: $2,55 \pm 0,01$ lg TKE/g; 0,5%: $2,64 \pm 0,02$ lg TKE/g; 1%: $2,79 \pm 0,02$ lg TKE/g; 2%: $2,78 \pm 0,01$ lg TKE/g). A 7. napra minden mintában csökkent a sejtszám (kontroll: $2,08 \pm 0,03$ lg TKE/g; 0,5%: $2,01 \pm 0,02$ lg TKE/g; 1%: $2,29 \pm 0,01$ lg TKE/g; 1,5%: $2,27 \pm 0,05$ lg TKE/g; 2%: $2,08 \pm 0,04$ lg TKE/g). Az első leoltáskor minden esetben szignifikáns különbségeket tapasztaltunk ($p_{K-0,5\%}=0,031$; $p_{K-1\%}=0,006$; $p_{K-1,5\%}=0,001$; $p_{K-2\%}<0,000$). A második, 7. napon történő mintavételkor a kontroll és 1%-os ($p=0,005$), a kontroll és 1,5% ($p=0,001$) minták között volt szignifikáns különbség, a többi esetben nem.

Összes telepképző egység vizsgálatokor a legnagyobb kiindulási sejtszámot az 1,5%-os minta esetén számoltuk, $7,52 \pm 0,01$ lg TKE/g, míg

a legkisebb a 0,5%-os mintánál volt, $7,38 \pm 0,01$ lg TKE/g. A 7. napra minden mintában nőttek a sejtszámok, a legnagyobb növekedés a kontroll minta esetén volt, $7,49 \pm 0,00$ lg TKE/g értékről, $8,08 \pm 0,02$ lg TKE/g értékre (47. ábra), míg a legkisebb növekedés az 1,5%-os minta esetén volt, $7,96 \pm 0,00$ lg TKE/g sejtszámra. A 14. napra az 1,5%-os minta sejtszáma nem változott jelentősen, a 2%-os minta esetén kismértékű csökkenést, míg a kontroll, 0,5%-os és 1%-os minták esetén növekedést tapasztaltunk. A 21. napon a kontroll, 0,5%-os és 1%-os mintákban a sejtszám elhanyagolható mértékben változott, a 2%-os mintában tovább csökkent, míg az 1,5%-os mintában kismértékben csökkent. Az első leoltáskor minden esetben szignifikáns különbséget tapasztaltunk ($p_{K\%-0,5\%}=0,001$; $p_{K-1\%}<0,000$; $p_{K-1,5\%}=0,034$; $p_{K-2\%}=0,014$). A második leoltáskor is minden esetben szignifikáns különbségeket tapasztaltunk ($p_{K\%-0,5\%}=0,009$; $p_{K-1\%}=0,019$; $p_{K-1,5\%}=0,007$; $p_{K-2\%}=0,003$). A harmadik leoltáskor csak a kontroll és 0,5%-os minták között nem volt szignifikáns a különbség, a többi esetben igen ($p_{K-1\%}<0,000$; $p_{K-1,5\%}<0,000$; $p_{K-2\%}=0,002$). Az utolsó 21. napon történő leoltás esetén a kontroll és 1,5%-os ($p=0,007$), a kontroll és 2%-os ($p=0,004$) minták között szignifikáns volt a különbség a sejtszámokban.

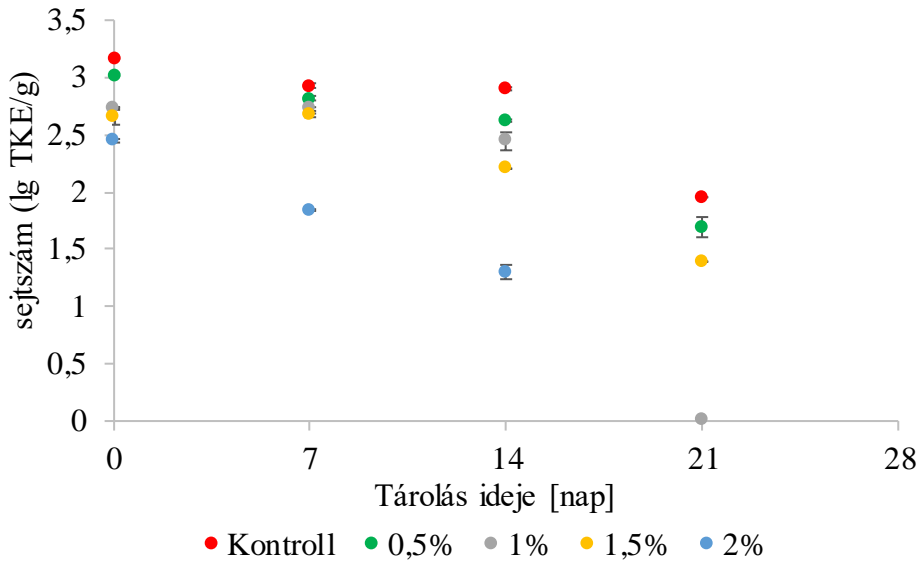


47. ábra: Összes telepképző egység a rozmaring illóolajjal kiegészített, valamint a kontroll mintákban

4.3.5. Bazsalikom illóolajával kiegészített kolbász mikrobiológiai vizsgálat eredményei

Cl. perfringens vizsgálatokor minden minta esetén a kiindulási sejtszám meghaladta az 4/1998 EüM rendelet által meghatározott visszautasítási határt, a 2%-os minta sejtszáma a 7. napra, míg a többi minta sejtszáma a 21. napra csökkent a határ alá. Minden leoltáskor a kontroll minta sejtszáma volt a legnagyobb, míg a legkisebb a 2%-os minta sejtszáma (48. ábra), utóbbi esetén a 21. nap kivétel, mivel az 1%-os mintában is a kimutatási határ alá csökkent a sejtszám. *In vitro* körülmények között az 5 mg/mL koncentráció is már baktericid hatással bírt (Radaelli et al., 2016), míg esetünkben a termék gyártása utáni 21. napon is találtunk tipikus *Cl. perfringens* telepeket a mintákban. Az első leoltáskor minden esetben szignifikáns volt a különbség ($p_{K-0,5\%}=0,001$; $p_{K-1\%}<0,000$; $p_{K-1,5\%}<0,000$; $p_{K-2\%}<0,000$). A második leoltáskor szintén szignifikáns volt a különbség

($p_{K\% - 0,5\%} < 0,000$; $p_{K-1\%} = 0,011$; $p_{K-1,5\%} < 0,000$; $p_{K-2\%} < 0,000$). A harmadik leoltáskor is minden összehasonlított minta között szignifikáns különbséget tapasztaltunk ($p_{K\% - 0,5\%} < 0,000$; $p_{K-1\%} = 0,007$; $p_{K-1,5\%} < 0,000$; $p_{K-2\%} = 0,002$). A negyedik leoltáskor is minden esetben szignifikáns volt a különbség ($p_{K\% - 0,5\%} < 0,000$; $p_{K-1\%} = 0,001$; $p_{K-1,5\%} = 0,001$; $p_{K-2\%} < 0,000$).



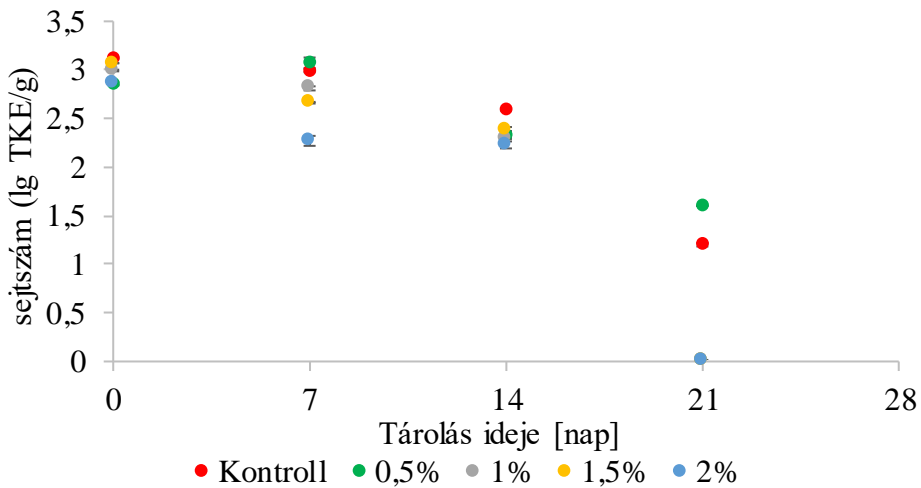
48. ábra: *Cl. perfringens* sejtszámváltozások bazsalikom illóolajával kiegészített mintákban

St. aureus esetén az 1%, az 1,5% és a 2%-os mintákban már az első leoltáskor a kimutatási határ alatt voltak a sejtszámok. A kontroll mintában $2,23 \pm 0,05$ lg TKE/g, míg a 0,5%-os mintában $2,13 \pm 0,05$ lg TKE/g sejtszámot számoltunk.

Az illóolajat tartalmazó mintákban csak az első leoltáskor találtunk *Salmonella* telepeket a szelektív tenyésztés után, míg a kontroll minta esetén még a 7. napon is.

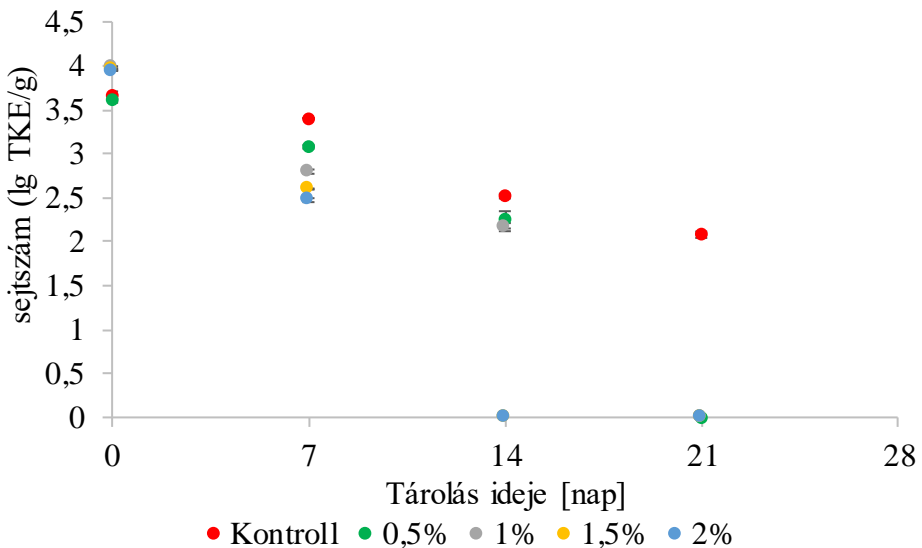
Egyik mintában sem tapasztaltunk tipikus *E. coli* telepeket.

Kóliform esetén a kontroll mintában volt a legnagyobb a kiindulási sejtszám, $3,11 \pm 0,01$ lg TKE/g. A 7. napon a 0,5%-os mintában emelkedett a sejtszám, $2,84 \pm 0,00$ lg TKE/g-ról, $3,07 \pm 0,05$ lg TKE/g értékre. A legnagyobb csökkenés a 2%-os minta esetén volt, $2,86 \pm 0,02$ lg TKE/g sejtszám-ról, $2,27 \pm 0,05$ lg TKE/g-ra (49. ábra). A 14. napon a minták sejtszáma, minden esetben csökkent. A 21. napon kontroll és 0,5%-os mintákban volt kóliform telep a lemezeken, a többi minta esetén nem. Az első leoltáskor a kontroll és 0,5%-os ($p < 0,000$), a kontroll és 1%-os ($p = 0,030$), a kontroll és 1,5%-os ($p = 0,018$), a kontroll és 2%-os ($p = 0,004$) minták közötti sejtszámbeli különbség szignifikáns volt. A második leoltáskor a kontroll és 0,5%-os minták közötti különbség nem volt szignifikáns, a többi esetben igen ($p_{K-1\%} = 0,017$; $p_{K-1,5\%} = 0,002$; $p_{K-2\%} = 0,001$). A harmadik leoltáskor minden esetben szignifikáns volt a különbség ($p_{K-0,5\%} = 0,007$; $p_{K-1\%} = 0,006$; $p_{K-1,5\%} < 0,000$; $p_{K-2\%} = 0,003$).



49. ábra: Bazsalikom illóolajával kiegészített minták kóliform számának változása

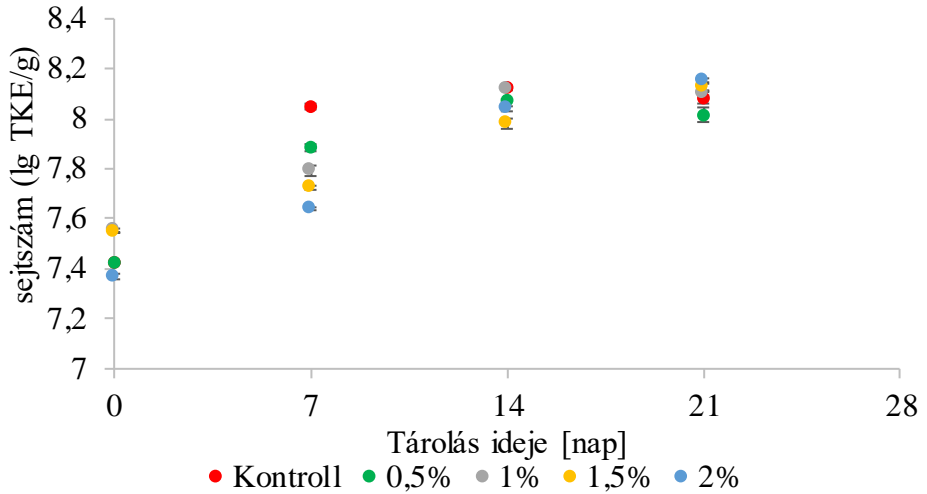
A kiindulási élesztő sejtszám a 2%-os mintában volt a legnagyobb, $3,95 \pm 0,00 \lg \text{TKE/g}$. A sejtszámok a leoltások előrehaladtával fokozatosan csökkentek. A 7. npra a legnagyobb csökkenést a 2%-os minta esetén találtuk, a sejtszám ezen a napon $2,47 \pm 0,02 \lg \text{TKE/g}$ volt. A 14. és 21. napon a 2%-os mintában nem találtunk élesztő telepeket a lemezeken (50. ábra). A 7. npra a legnagyobb sejtszám, a vizsgálat végéig a kontroll mintára volt jellemző. A 21. napon csak a kontroll minta tartalmazott élesztősejteket, ahogy a 47. ábrán is látható, a többi minta esetén nem találtunk telepeket a lemezeken. A bazsalikom illóolaja a szakirodalom szerint az egyik legjobb élesztőgátló hatással bíró illóolaj (Kunicka-Styczyńska, 2011), kolbászok felületi kezelésére is alkalmas (Saggiolato et al., 2009). Az első leoltáskor a kontroll és 0,5%-os minták között nem volt szignifikáns a különbség, a többi minta között igen ($p_{K-1\%}=0,006$; $p_{K-1,5\%}=0,017$; $p_{K-2\%}=0,012$). A második leoltáskor minden esetben szignifikáns volt a különbség a sejtszámok között ($p_{K-0,5\%}=0,001$; $p_{K-1\%}=0,001$; $p_{K-1,5\%}<0,000$; $p_{K-2\%}<0,000$).



50. ábra: Élesztő sejtszámának változása

Penészt csak az első leoltás alkalmával mutattunk ki a mintákban (kontroll: $2,62 \pm 0,03$ lg TKE/g; 0,5%: $2,54 \pm 0,01$ lg TKE/g; 1%: $2,61 \pm 0,00$ lg TKE/g; 1,5%: $2,55 \pm 0,03$ lg TKE/g; 2%: $2,55 \pm 0,02$ lg TKE/g). A kontroll és a 0,5%-os ($p=0,015$), a kontroll és 2%-os ($p=0,092$) minták közt volt szignifikáns a különbség, a többi eset esetén nem.

A bazsalikom illóolaj jelenléte ellenére a mintákban minden mintavétel alkalmával emelkedett az összes telepképző egység száma. A legnagyobb sejtszámnövekedést a 2%-os minta esetén volt, a kiindulási sejtszám, $7,36 \pm 0,01$ lg TKE/g, a 21. napra $8,15 \pm 0,01$ lg TKE/g sejtszámra nőtt (51. ábra). A legkisebb növekedést az 1%-os mintánál tapasztaltuk, a $7,55 \pm 0,01$ lg TKE/g sejtszám a 21. napra $8,1 \pm 0,01$ lg TKE/g-ra nőtt. A kontroll mintában is jelentős növekedést tapasztaltunk, a kiindulási sejtszámról, $7,42 \pm 0,00$ lg TKE/g, a 21. napon $8,09 \pm 0,03$ lg TKE/g. Az első leoltáskor a kontroll és 0,5%-os ($p=1,000$) mintákban nem volt jelentős különbség a sejtszámok között, a többi minta összehasonlításakor igen ($p_{K-1\%}=0,001$; $p_{K-1,5\%}<0,000$; $p_{K-2\%}=0,007$). A második leoltáskor minden esetben szignifikáns volt a különbség a minták között ($p_{K\%-0,5\%}=0,008$; $p_{K-1\%}=0,005$; $p_{K-1,5\%}=0,001$; $p_{K-2\%}=0,001$). A harmadik leoltáskor a kontroll és 1%-os minták között nem volt szignifikáns a különbség, a többi esetben az volt ($p_{K\%-0,5\%}=0,011$; $p_{K-1,5\%}=0,004$; $p_{K-2\%}=0,011$). Az utolsó, 21. napos mintavételkor minden esetben szignifikáns volt a különbség ($p_{K\%-0,5\%}=0,157$; $p_{K-1\%}=0,300$; $p_{K-1,5\%}=0,203$; $p_{K-2\%}=0,087$).



51. ábra: Összes telepképző egység számának változása bazsalikom illóolaj hatására.

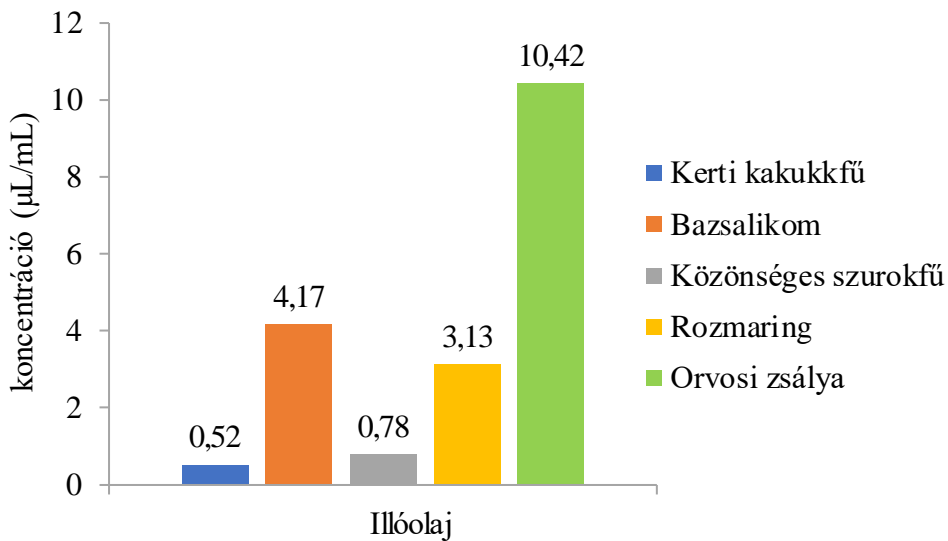
4.4. A minimális gátlási koncentrációk meghatározása

Mindhárom baktérium esetén a két legerősebb illóolajat, azaz a legkisebb gátlási koncentrációval rendelkezőt választottuk ki, kivétel volt a *St. aureus*, mely esetében a legkisebb koncentráció is már erős hatással bírt a termékek organoleptikus tulajdonságaira.



52. ábra: *E. coli* gátlási koncentrációinak meghatározása rezazurin oldat jelenlétében (forrás: saját kép)

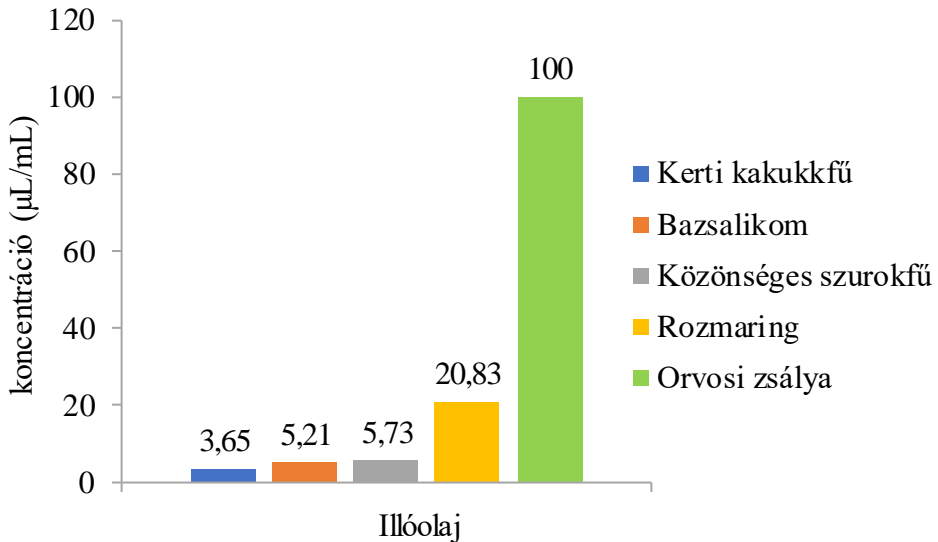
E. coli esetén a vizsgált illóolajok koncentrációi eléggé vegyesek voltak, a leggyengébb az orvosi zsálya volt, az átlagos gátlókoncentráció 10,42 $\mu\text{L}/\text{mL}$ volt (53. ábra). A legerősebb a kerti kakukkfű, 0,52 $\mu\text{L}/\text{mL}$ és az oregánó voltak 0,78 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Fournomiti et al. (2013) *E. coli* esetében 0,25–0,29 mg/mL, Ghrairi és Hani (2013) 3,6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ MIC értéket mutattak ki. Li et al. (2022) oregánó esetén 0,156 $\mu\text{L}/\text{mL}$ MIC értéket mutatott ki, míg de Medeiros Barbosa et al. (2016) 0,6 $\mu\text{L}/\text{mL}$ koncentrációt. A 50. ábrán láthatók az eltérések az illóolajok között.



53. ábra: A vizsgált illóolajok *E. coli* ATCC 25922 törzs esetén mért minimális gátlási koncentrációi

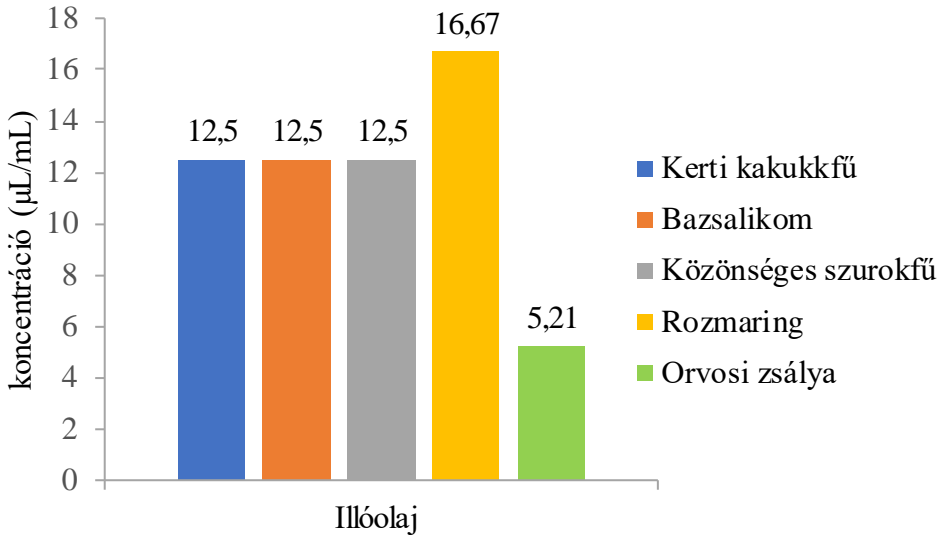
Salmonella esetén a kakukkfűre és bazsalikomra esett a választás, mivel e kettő illóolaj bírt a legkisebb gátlókoncentrációval. Az orvosi zsálya még a legnagyobb, 100 $\mu\text{L}/\text{mL}$ koncentrációban sem gátolta (54. ábra). A rezaurin oldat hozzáadása után színváltozást tapasztaltunk minden csőben. A szakirodalom szerint a kakukkfű illóolájának MIC értéke 0,5–8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ között mozoghat *S. Typhimurium* esetén (El-Azzouny et al., 2018).

Ha a *Salmonella* biofilm alkotója, ez az érték nőhet, Morshdy et al. (2022) kísérletei során 0,106 mg/mL értékről 0,725 mg/mL értékre nőtt, de a magasabb MIC érték esetén is csak a biofilm kialakulásának 50%-át gátolta.



54. ábra: A választott illóolajok *S. Typhimurium* ATCC 17028 törzsre gyakorolt minimális gátlási koncentrációi

St. aureus esetén a kapott koncentrációk, a másik két baktériumhoz képest, az orvosi zsálya kivételével, sokkal nagyobbak voltak (55. ábra). A szakirodalom szerint az illóolajok adagolt mennyiségének megválasztása fontos, mivel a termékek organoleptikus tulajdonságait már kis mennyiségben is befolyásolhatják. Ezért *St. aureus* esetében csak az orvosi zsálya illóolaját vizsgáltuk tovább, mivel a többi gyógynövény gátlókoncentrációja jóval nagyobb volt. Yazgan et al. (2020) kísérletében a zsálya illóolajának MIC koncentrációja 25 mg/mL érték volt, míg El Jery et al. (2020) kísérlete során 0,1235 mg/mL volt. A de Carvalho et al. (2015) által végzett kísérlet során a kakukkfű illóolajának MIC értéke 2,5 µg/mL volt, a mi esetünkben 12,5 µL/mL.



55. ábra: A vizsgált illóolajok *St. aureus* ATCC 6538 törzs esetén mért minimális gátlási koncentrációi

4.5. Befertőzött kolbász mikrobiológiai vizsgálatának eredményei

4.5.1. *Escherichia coli*-val befertőzött minták eredményei

A befertőzött mintákat a befertőzés után, majd a 16., 24., 48. és 72. órában oltottuk le. Arra voltunk kíváncsiak, hogy egy esetleges külső forrásból származó kontaminációra milyen rövid távú hatással lenne az előzőleg meghatározott minimális gátlási koncentrációban hozzáadott illóolaj, az általunk vizsgált törzsekre.

E. coli esetén az hozzáadott oregánó illóolaj folyamatosan, a leoltás előrehaladtával, de kismértékben csökkentette a sejtszámot. A kiindulási sejtszám $6,24 \pm 0,01$ lg TKE/g volt, mely a 16. órára $4,95 \pm 0,02$ lg TKE/g sejtszámra csökkent. A 24. órától a 72. óráig a csökkenés mértéke lassult, a 24. órában $4,89 \pm 0,00$ lg TKE/g, a 48. órában $4,83 \pm 0,01$ lg TKE/g volt a sejtszám a mintákban.

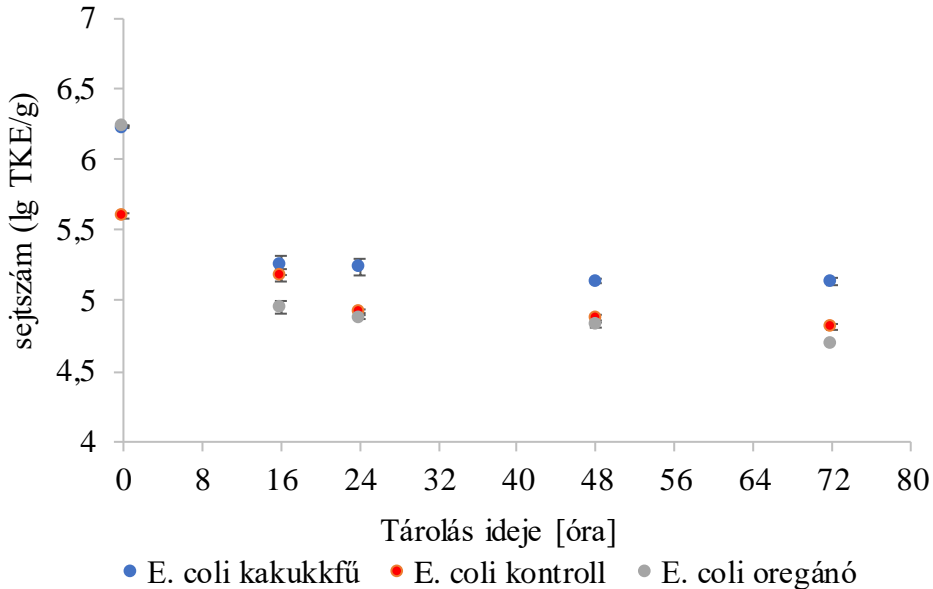
A kakukkfűvel kiegészített minták esetén a kiindulási sejtszám majdnem megegyezett az oregánó illóolaját tartalmazó mintával, $6,23 \pm 0,01$ lg TKE/g. A csökkenés itt is tapasztalható volt, viszont mértéke kisebb volt (56. ábra). A 16. órára $5,25 \pm 0,07$ lg TKE/g volt a sejtszám, a 24. órai mintavételkor $5,24 \pm 0,06$ lg TKE/g, a 48. órában $5,14 \pm 0,02$ lg TKE/g. Míg az utolsó, 72. órai leoltáskor $5,14 \pm 0,03$ lg TKE/g volt a végső sejtszám.

A kontroll mintában is csökkent a sejtszám, a kiindulási sejtszám itt volt a legkisebb, $5,6 \pm 0,02$ lg TKE/g. A 72. órára a sejtszám $4,81 \pm 0,02$ lg TKE/g értékre csökkent.

A legnagyobb csökkenést az oregánóval kiegészített mintában tapasztaltuk (1,55 nagyságrend), ezt követte a kakukkfű illóolaját tartalmazó minta (1,096 nagyságrend).

Az első leoltáskor, mely a befertőzés után történt, szignifikáns különbséget a kakukkfű illóolaját tartalmazó, illetve a kontroll ($p < 0,000$) minta, illetve az oregánó illóolajjal kiegészített és a kontroll ($p = 0,001$) minták között volt, míg a két illóolajjal kiegészített ($p = 0,357$) minta közt nem volt. A 16. órában történő leoltáskor csak az oregánó illóolaját tartalmazó és a kontroll ($p = 0,005$), míg a két illóolaj összehasonlításakor ($p = 0,072$) és a kakukkfű és kontroll ($p = 0,549$) minták között nem. A 24. órában a két illóolaj ($p = 0,038$), illetve a kakukkfű illóolajával kiegészített és a kontroll ($p = 0,011$) minták között volt szignifikáns a különbség az oregánóval kiegészített és a kontroll ($p = 0,341$) minták között nem. A 48. órában szintén a két illóolaját tartalmazó minta között ($p < 0,000$), illetve a kakukkfű és a kontroll ($p = 0,002$) minták között volt a sejtszámban szignifikáns a különbség, az oregánó illóolaját tartalmazó és a kontroll ($p = 0,507$) között nem. A 72. órára a két illóolajjal kiegészített ($p = 0,008$), a kakukkfű

és kontroll ($p=0,006$) és az oregánó illóolajjal kiegészített és kontroll ($p=0,022$) minták között is szignifikáns volt a különbség a sejtszámok között.



56. ábra: Kakukkfű, illetve oregánó illóolajának hatása *E. coli* sejtszámára

4.5.2. *Salmonella*-val befertőzött minták eredményei

Salmonella-val befertőzött minták esetén a bazsalikom illóolaját tartalmazó mintában a kiindulási sejtszám $5,89 \pm 0,04$ lg TKE/g volt, mely a leoltások előrehaladtával a 48. óráig fokozatosan, míg a 72. órára kissé mértékben jelentősebb mértékben csökkent. A 72. órában a minta sejtszáma $4,55$ lg TKE/g volt. Nagyobb csökkenést a 16. órában ($5,52 \pm 0,01$ lg TKE/g) és a 72. órában tapasztaltunk.

A kakukkfű illóolaját tartalmazó minta esetén a sejtszámok az első és 16. óráig nagyjából megegyeztek a bazsalikom illóolaját tartalmazó és a kontroll mintával (57. ábra), a 48. órától volt megfigyelhető nagyobb eltérés a kontrollhoz képest. A kiindulási sejtszám $5,89 \pm 0,04$ lg TKE/g volt,

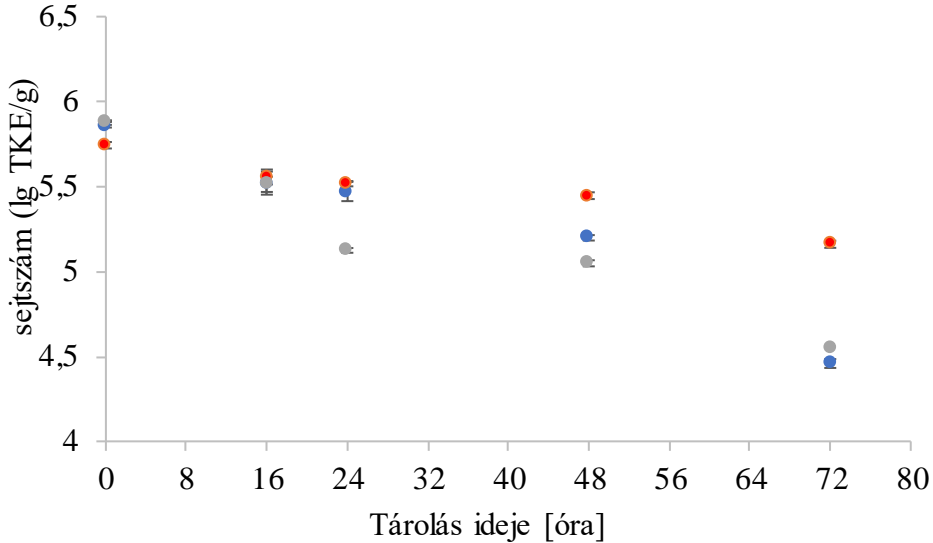
a 48. órában $5,198 \pm 0,02$ lg TKE/g. A 72. órára a sejtszám $4,46 \pm 0,04$ lg TKE/g értékre csökkent.

A kontroll mintában a kiindulási sejtszám $5,74 \pm 0,03$ lg TKE/g volt, mely fokozatosan csökkent. A három minta közül a kontroll esetén maradtak a legnagyobbak a sejtszámok a mintavételek esetén, kivéve az első leoltást, amikor a bazsalikom illóolaját tartalmazó mintának volt a legnagyobb a sejtszáma.

A legnagyobb sejtszámcsökkenést a kakukkfű illóolaját tartalmazó mintában volt (1,397 nagyságrend), ezt követte a bazsalikom illóolajával kiegészített minta (1,338 nagyságrend), végül a kontroll minta (0,393 nagyságrend).

Az első leoltáskor a bazsalikommal kiegészített és a kontroll minták ($p=0,032$) között volt egyedül szignifikáns a különbség, míg a két illóolaj ($p=0,629$), illetve a kakukkfű, kontroll ($p=0,098$) minták között nem. A 16. órában a két illóolajat ($p=0,002$) és a kakukkfű és kontroll ($p=0,002$) minták között volt szignifikáns a sejtszámokban, míg a bazsalikom illóolajával kiegészített és a kontroll ($p=0,105$) minták között nem. A 24. órában a két illóolaj összehasonlításakor esetén ($p=0,009$), illetve a bazsalikommal illóolajával kiegészített és a kontroll ($p=0,005$) minták között volt szignifikáns a különbség, míg a kakukkfű illóolaját tartalmazó és a kontroll minta ($p=0,129$) között nem. A 48. órában a két illóolajtartalmú minta ($p=0,008$), a bazsalikom illóolaját tartalmazó és a kontroll ($p=0,005$) minták között szignifikáns volt a különbség, míg a kakukkfű illóolaját tartalmazó és a kontroll ($p=0,827$) minták között nem. A 72. órában a kakukkfű illóolajjal kiegészített és a kontroll ($p=0,005$), illetve a bazsalikom illóola-

ját tartalmazó kolbászminta, illetve a kontroll, csak a *Salmonella*-t tartalmazó ($p=0,002$) minták között volt a különbség szignifikáns, míg a két illóolajat tartalmazó ($p=0,014$) minta között nem.



● Salmonella kakukkfű ● Salmonella kontroll ● Salmonella bazsalikom

57. ábra: Kakukkfű és bazsalikom illóolajának hatása *Salmonella* sejtszámára

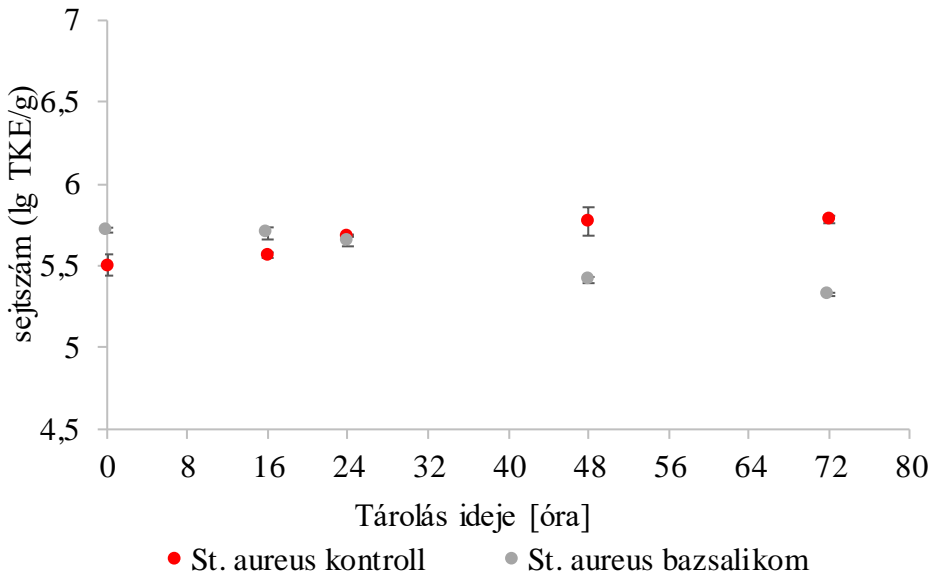
4.5.3. *Staphylococcus aureus*-szal befertőzött minták eredményei

St. aureus esetén a bazsalikom illóolajának hatása elhanyagolható volt, a vizsgálat alatt a sejtszám alig csökkent. A kiindulási sejtszám $5,72 \pm 0,02$ lg TKE/g volt, mely 16. órára $5,698 \pm 0,04$ lg TKE/g sejtszámra csökkent (58. ábra). A 24. óra ($5,65 \pm 0,03$ lg TKE/g) és 16. óra közötti különbség elhanyagolható. A 72. órára a mintában $5,325 \pm 0,01$ lg TKE/g-ra csökkent a sejtszám.

A kontroll mintában a sejtszám lassan emelkedett, a kiindulási $5,505 \pm 0,07$ lg TKE/g sejtszámról, a 72. órára $5,783 \pm 0,02$ lg TKE/g sejtszámra.

Az illóolajjal kiegészített mintában a sejtszám 0,393 nagyságrendet csökkent, míg a kontroll mintában 0,278 nagyságrendet emelkedett.

Az első leoltáskor nem volt jelentős különbség a zsálya illóolaját tartalmazó minta, illetve a kontroll minta ($p=0,159$) között. A 16. órában a különbség szignifikáns volt ($p=0,045$), a 24. órában is ($p=0,048$), a 48. órában is ($p=0,047$), illetve a 72. órában is ($p=0,002$).



58. ábra: Bazsalikom illóolajával kiegészített sütőkolbászminta *St. aureus* sejtszámának és a kontroll minta sejtszámának változása

4.6. Befertőzött májpástétomok mikrobiológiai vizsgálatának eredményei

4.6.1. *Escherichia coli*-val befertőzött minták vizsgálati eredményei

A kiindulási sejtszámok között kismértékű eltérés volt. A sejtszámokat be tudtuk állítani.

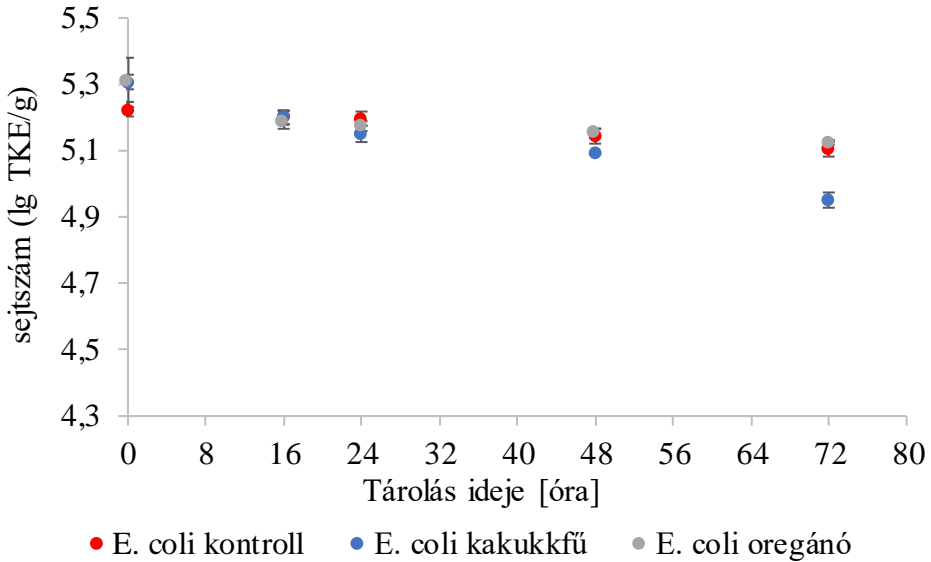
Oregánó illóolaja esetén a kiindulási sejtszám $5,306 \pm 0,07$ lg TKE/g, mely csak kismértékben csökkent a vizsgálat végéig, a 72. óráig. A legnagyobb csökkenés az első és 16. órai mintavétel között volt, utóbbi esetében a sejtszám $5,186 \pm 0,02$ lg TKE/g volt. A 72. órára a minta sejtszáma $5,125 \pm 0,01$ lg TKE/g-ra csökkent. A csökkenés $0,181$ nagyságrendnyi volt.

Kakukkfű esetén az első leoltáskor a sejtszám az $5,307 \pm 0,02$ lg TKE/g értékről indult. A 16. órára a sejtszám $5,2 \pm 0,02$ lg TKE/g értékre csökkent, majd a 24. órára $5,151 \pm 0,03$ lg TKE/g-ra. A 48. és 72. órai sejtszámok között volt e minták esetén a legnagyobb az eltérés (59. ábra), az $5,09 \pm 0,00$ lg TKE/g sejtszám és $4,951 \pm 0,02$ lg TKE/g sejtszám között $0,141$ nagyságrend. Elmondható, hogy májpestis esetén a kakukkfű illóolaja nem volt jelentős hatással a minta *E. coli* sejtszámára.

A kontroll mintában is csökkent a sejtszám, a kiindulási $5,225 \pm 0,01$ lg TKE/g értékről, $5,104 \pm 0,03$ lg TKE/g értékre. A két érték között a csökkenés $0,121$ nagyságrend volt.

Az első leoltáskor a minták t-próbával történő összehasonlítása esetén egy esetben sem tapasztaltunk szignifikáns különbséget ($p_{\text{EcK-EcO}}=0,991$; $p_{\text{EcK-EcKon}}=0,356$; $p_{\text{EcO-EcKon}}=0,149$). A második leoltáskor, a 16. órában a kakukkfű illóolaját, illetve az oregánó illóolaját tartalmazó minták ($p=0,016$) között volt szignifikáns különbség, míg a kakukkfű illóolaját tartalmazó és a kontroll ($p=0,993$), illetve az oregánó illóolaját tartalmazó és a kontroll ($p=0,147$) minták között nem. A 24. órában egyik esetben sem volt szignifikáns különbség a sejtszámok között ($p_{\text{EcK-EcO}}=0,367$; $p_{\text{EcK-EcKon}}=0,367$; $p_{\text{EcO-EcKon}}=0,425$). A 48. órában a két illóolaj tartalmú minta ($p=0,026$) között volt szignifikáns a különbség, a többi esetben nem ($p_{\text{EcK-EcKon}}=0,220$; $p_{\text{EcO-EcKon}}=0,659$). A 72. órában, hasonlóan

a 48. órához, csak a két illóolaj tartalmú minta összehasonlítása esetén találtunk szignifikáns különbséget ($p=0,015$), a másik két esetben nem ($p_{EcK-EcKon}=0,073$; $p_{EcO-EcKon}=0,363$).



59. ábra: *E. coli*-val befertőzött minták sejtszámai

4.6.2. *Salmonella*-val befertőzött minták vizsgálati eredményei

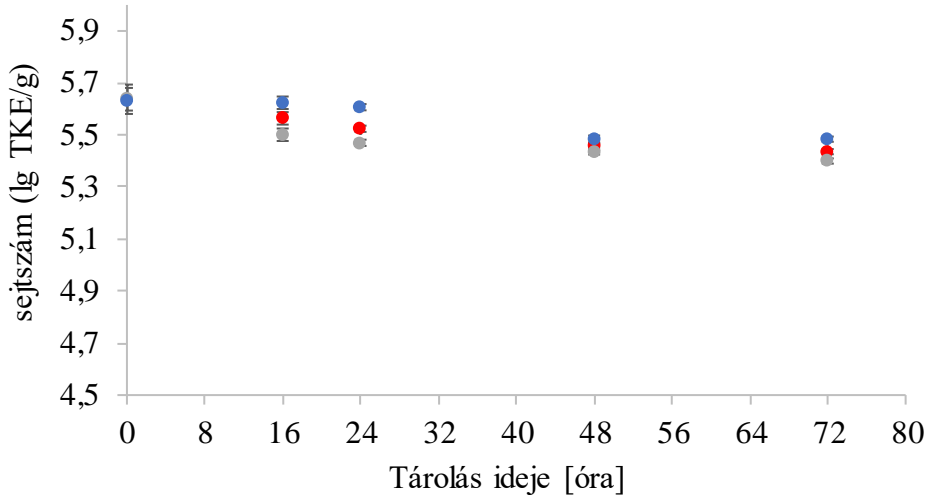
Kakukkfű illóolaja esetében a kiindulási sejtszám $5,631 \pm 0,01$ lg TKE/g volt. A mintavételek során kismértékű csökkenést tapasztaltunk minden esetben, a legnagyobb csökkenést, mely még mindig elhanyagolható volt, a 24. és 48. óra között tapasztaltunk, az $5,607 \pm 0,05$ lg TKE/g sejtszámról, $5,485 \pm 0,02$ lg TKE/g értékre. A 72. órára a sejtszám $5,484 \pm 0,07$ lg TKE/g volt. A csökkenés az első és utolsó leoltás közt 0,147 nagyságrend volt.

Bazsalikom illóolaja esetén a kiindulási sejtszám $6,644 \pm 0,05$ lg TKE/g volt. A mintában a sejtszám csökkent (60. ábra), de szintén elhanyagolható volt a csökkenést, az illóolaj gátlóhatásához képest. Az első és 16. óra között volt a legnagyobb a csökkenést, $5,501 \pm 0,02$ lg TKE/g-ra. A

72. órára a mintában a sejtszám $5,4 \pm 0,01$ lg TKE/g-ra csökkent. Az első és utolsó leoltás között 0,244 nagyságrendnyi volt a csökkenés.

Salmonella-val befertőzött minták esetén a kontroll mintában volt a legnagyobb a sejtszám csökkenése, a kiindulási $5,644 \pm 0,05$ lg TKE/g értékről, $5,436 \pm 0,00$ lg TKE/g értékre. A csökkenés 1,105 nagyságrendnyi volt.

Az első leoltáskor a kétmintás t-próba alapján a kakukkfű illóolaját tartalmazó, illetve a bazsalikom illóolaját tartalmazó minta ($p=0,626$) között nem volt szignifikáns a különbség, a kakukkfű illóolaját tartalmazó, illetve a kontroll minták között ($p=0,001$), illetve a bazsalikom illóolaját tartalmazó és a kontroll minta ($p=0,003$) között viszont szignifikáns volt. A 16. órában a bazsalikom és a kontroll minták ($p=0,042$) között volt szignifikáns a különbség, míg a két illóolaj ($p=0,608$), illetve a kakukkfű illóolajával adalékolt minta és a kontroll ($p=0,256$) között nem. A 24. órában a két illóolaj között ($p=0,030$), illetve a kakukkfű illóolajjal kiegészített és a kontroll minták között ($p=0,047$) volt jelentős a különbség, míg a bazsalikom illóolajával kiegészített és a kontroll minta ($p=0,246$) között nem. A 48. órában egyik esetben sem találtunk szignifikáns különbséget a t-próba elvégzése után ($p_{SK-SB}=0,089$; $p_{SK-SKon}=0,336$; $p_{SB-SKon}=0,170$). A 72. órában mindhárom összehasonlítás esetén szignifikáns különbséget tapasztaltunk ($p_{SK-SB}<0,000$; $p_{SK-SKon}=0,013$; $p_{SB-SKon}=0,039$).



- Salmonella kontroll
- Salmonella bazsalikom
- Salmonella kakukkfű

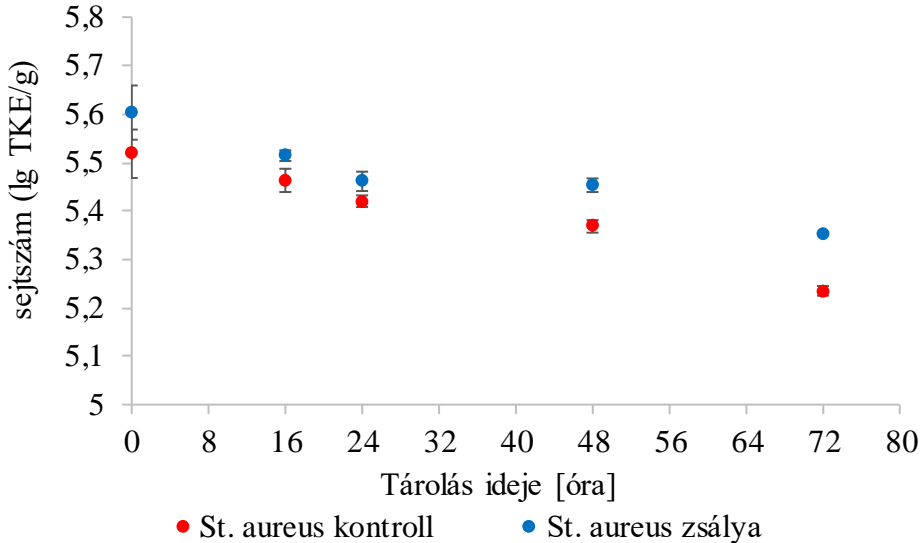
60. ábra: *Salmonella*-val befertőzött májpástétom vizsgálatának eredményei

4.6.3. *Staphylococcus aureus*-sal befertőzött minták vizsgálati eredményei

St. aureus esetén a zsálya illóolaját tartalmazó minta kiindulási sejtszáma $5,603 \pm 0,06$ lg TKE/g volt, mely kismértékben, de csökkent a leoltás előrehaladtával. A legnagyobb csökkenés a 48. és 72. óra között volt (61. ábra), a sejtszám $5,453 \pm 0,01$ lg TKE/g értékről, $5,354 \pm 0,00$ lg TKE/g értékre csökkent. A vizsgált során a teljes csökkenés 0,249 nagyságrend volt.

A kontroll mintában a kiindulási sejtszám $5,518 \pm 0,03$ lg TKE/g volt, mely a 72. órára $5,235 \pm 0,02$ lg TKE/g értékre csökkent. A teljes csökkenés 0,283 nagyságrend volt, mely közel volt a zsálya illóolajával kiegészített mintáknál tapasztalt csökkenéshez.

Az első ($p=0,209$), a 16. órás ($p=197$), a 24. órás ($p=248$), illetve a 48. órás ($p=0,052$) leoltások esetén nem volt szignifikáns különbség a zsálya illóolaját tartalmazó és a kontroll minták között, szignifikáns különbséget csak a 72. órában ($p=0,006$) tapasztaltunk.



61. ábra: *St. aureus*-szal befertőzött minták mikrobiológiai vizsgálatának eredményei

4.6.4. *Escherichia coli* vizsgálat eredményei, kétszeres MIC mellett

Az egyszeres MIC nem a várt eredményeket adta, így a vizsgálatokat megismételtük, mindhárom esetben. A mintákhoz az előzőleg meghatározott MIC értékek kétszeresét adtuk. A vizsgálatok körülményei megegyeztek az első vizsgálatéval.

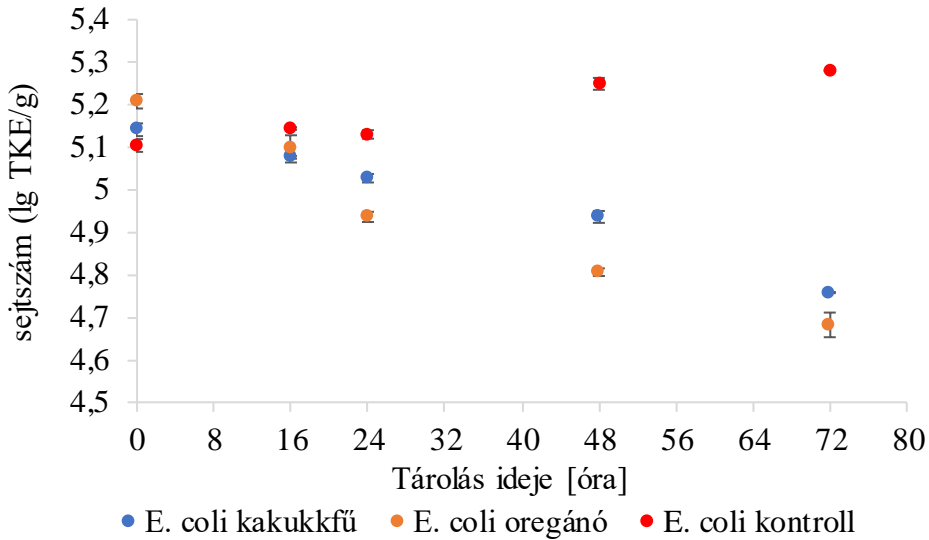
E. coli esetén az oregánó illóolaját tartalmazó mintában volt a legnagyobb a kiindulási sejtszám ($5,208 \pm 0,01$ lg TKE/g), melynek értéke a leoltások előrehaladtával csökkent (62. ábra). A 72. órára

4,682±0,03 lg TKE/g volt a minta sejtszáma. A teljes csökkenés 0,383 nagyságrend volt, míg az egyszeres MIC esetén 0,181.

Kakukkfű esetén szintén csökkenő tendencia volt megfigyelhető, ugyanakkor ez kisebb mértékű volt, mint az oregánó illóolajával kiegészített mintákban. Az első leoltáskor a sejtszám 5,141±0,02 lg TKE/g volt. A legnagyobb csökkenést a 48. és 72. óra között tapasztaltuk, 0,124 nagyságrendnyit. A vizsgálat végére a teljes sejtszámcsökkenés 0,526 volt, az egyszeres MIC esetén tapasztalt pedig 0,356.

A kontroll mintában a kiindulási sejtszám 5,104±0,01 lg TKE/g volt. A sejtszám, az egyszeres MIC vizsgálatától eltérően, a vizsgálat végéig lassan emelkedett, a 72. órára 5,28±0,00 lg TKE/g lett. A teljes növekedés 0,176 nagyságrend volt.

Az első leoltáskor a két illóolajtartalmú minta között nem volt szignifikáns a különbség ($p=0,062$), a kakukkfű és a kontroll ($p=0,010$), illetve az oregánó illóolajával kiegészített és a kontroll ($p=0,019$) minta között viszont igen. A 16. órában a kakukkfű illóolaját tartalmazó, illetve a kontroll minták ($p=0,004$) között volt szignifikáns a különbség, míg az illóolaj tartalmú minták ($p=0,414$) és az oregánó illóolajával kiegészített és a kontroll ($p=0,174$) minták között nem. A 24. órában mindhárom összehasonlításkor szignifikáns különbséget tapasztaltunk ($p_{\text{EcK-EcO}} < 0,000$; $p_{\text{EcK-EcKon}} = 0,005$; $p_{\text{EcO-EcKon}} = 0,002$), ez elmondható a 48. órától is ($p_{\text{EcK-EcO}} = 0,002$; $p_{\text{EcK-EcKon}} = 0,001$; $p_{\text{EcO-EcKon}} < 0,000$) és a 72. órától is ($p_{\text{EcK-EcO}} = 0,044$; $p_{\text{EcK-EcKon}} < 0,000$; $p_{\text{EcO-EcKon}} = 0,001$).



62. ábra: *E. coli*-val befertőzött minták sejtszáma, kétszeres MIC illóolajjal kiegészítve

4.6.5. *Salmonella* vizsgálat eredményei, kétszeres MIC mellett

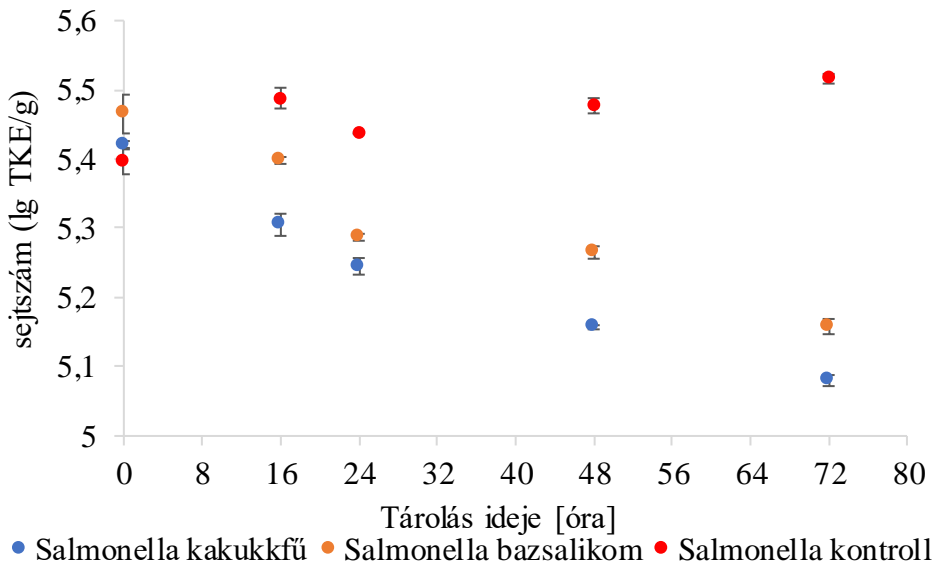
A kakukkfű illóolaját tartalmazó minta sejtszáma $5,421 \pm 0,01$ lg TKE/g értékről indult, mely a leoltások előrehaladtával kismértékben ugyan, de folyamatosan csökkent (63. ábra). A legnagyobb csökkenést az első és 16. óra között tapasztaltuk, $5,305 \pm 0,02$ lg TKE/g-ra csökkent a mintában a sejtszám. A 72. óra végére $5,08 \pm 0,01$ lg TKE/g volt a *Salmonella* sejtszáma. Annak ellenére, hogy a MIC kétszeres mennyiségben volt adagolva a termékhez, ez a csökkenés még mindig nem a várható mértékű volt. A teljes sejtszámcsökkenés $0,341$ nagyságrend volt, míg az egyszeres MIC esetén $0,147$.

A bazsalikom illóolaját tartalmazó minta esetén volt a legnagyobb a kiindulási sejtszám, $5,465 \pm 0,03$ lg TKE/g, melyben szintén csökkent a sejtszám. A 16. órában $5,398 \pm 0,01$ lg TKE/g, a 24. órában $5,287 \pm 0,01$ lg TKE/g, a 48. órában $5,265 \pm 0,01$ lg TKE/g, míg a 72. órában

5,158±0,01 lg TKE/g volt a sejtszám. A legnagyobb csökkenés a 16. és 24. óra között volt. A teljes sejtszámcsökkenés 0,307 nagyságrend volt, az egyszeres MIC esetén 0,244.

A kontroll mintában a 16. órára nőtt a sejtszám, a kiindulási 5,396±0,02 lg TKE/g-ról, 5,488±0,02 lg TKE/g értékre. A 24. órára kissé csökkent a sejtszám, majd a 48. és 72. órára ismét nőtt. Ez az inokulum nem megfelelő elkeveréséből is következhet.

Az első leoltáskor egyik esetben sem találtunk szignifikáns különbséget a minták között ($p_{SK-SB}=0,082$; $p_{SK-SKon}=0,139$; $p_{SB-SKon}=0,060$). A 16. órás ($p_{SK-SB}=0,011$; $p_{SK-SKon}=0,003$; $p_{SB-SKon}=0,005$), a 24. órás ($p_{SK-SKon}=0,002$; $p_{SB-SKon}<0,000$), a 48. órás ($p_{SK-SB}=0,002$; $p_{SK-SKon}<0,000$; $p_{SB-SKon}<0,000$), a 72. órás ($p_{SK-SB}=0,001$; $p_{SK-SKon}<0,000$; $p_{SB-SKon}=0,001$) leoltáskor viszont igen. Egy esetben nem, ez a 24. órában a kakukkfű és a bazsalikom illóolajával kiegészített minták ($p=0,161$) esetében volt.



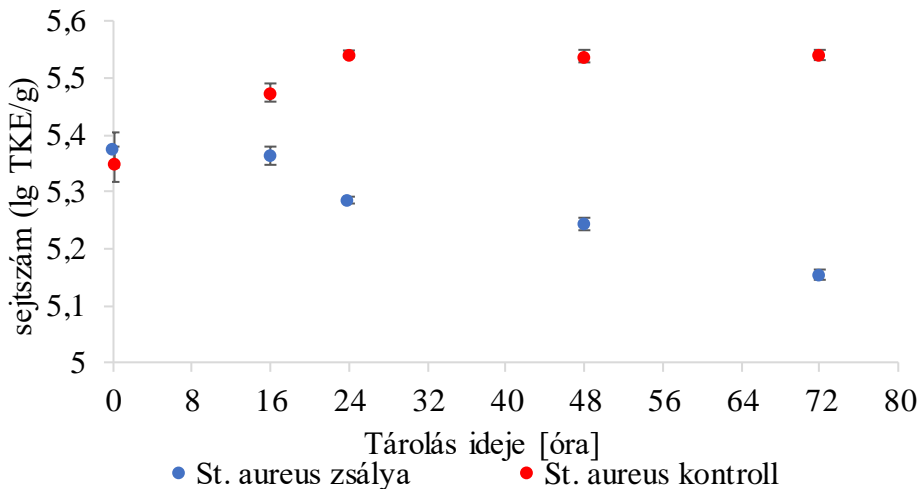
63. ábra: *Salmonella*-val befertőzött minták sejtszáma, kétszeres MIC illóolajjal kiegészítve

4.6.6. *Staphylococcus aureus* vizsgálat eredményei, kétszeres MIC mellett

A zsálya illóolaját kétszeres MIC mennyiségben tartalmazó minta esetén a sejtszám a 16. órától csökkent, addig megközelítőleg a kiindulási sejtszámon maradt, $5,373 \pm 0,01$ lg TKE/g, míg a 16. órai mintavételkor $5,363 \pm 0,02$ lg TKE/g volt. A 24. órára $5,285 \pm 0,01$ lg TKE/g értékre csökkent, a 48. órában $5,243 \pm 0,01$ lg TKE/g sejtszámot mértünk, míg a 72. órában $5,154 \pm 0,01$ lg TKE/g sejtszámot (64. ábra). A csökkenés 0,219 nagyságrend volt, míg az egyszeres MIC érték esetén 0,249.

A kontroll minta esetén a sejtszám lassan, de fokozatosan emelkedett. Az első leoltáskor $5,348 \pm 0,03$ lg TKE/g volt, mely a 72. órára $5,54 \pm 0,01$ lg TKE/g értékre nőtt.

Az első leoltás kivételével ($p=0,349$), a 16. órában ($p<0,000$), a 24. órában ($p=0,001$), a 48. órában ($p=0,004$), illetve a 72. órában ($p<0,000$) minden esetben szignifikáns volt a különbség a zsálya illóolaját tartalmazó minta, illetve a kontroll minta között.



64. ábra: *St. aureus*-szal befertőzött minták sejtszáma, kétszeres MIC illóolajjal kiegészítve

5. KÖVETKEZTETÉSEK

Szárított gyógynövények adagolásakor bizonyos esetekben szignifikáns hatása ($p \geq 0.05$) volt a nagyobb koncentráció adagolásának (nyers sütőkolbász massa esetén) az alkalmazott mennyiség és a tárolási idő függvényében. Elmondható, hogy az eredmények alapján a szárított formában adagolt rozmaring *Salmonella* esetén a tárolási időszak 1. hetétől nem volt kimutatható a mikroorganizmus, mely gátlóhatásra enged következtetni, amely elmondható volt kóliformok esetén is. Szárított kakukkfű esetén is megemlíthető *Salmonella* elleni gátlóhatás mely az 1%-os, 1,5%-os és 2%-os minták esetén a 7. naptól érvényesült. Ezek az eredmények arra engednek következtetni, hogy a gyógynövényekben található komponensek termékbe való extrakciója és azok gátló hatásának erőssége a tárolási idő elteltével növekedhet.

Illóolajok adagolásáról elmondható, hogy az általunk vizsgáltak számos esetben csökkentették a vizsgált mikroorganizmusok számát, esetenként a tárolás 14-21. napjára nem mutattunk ki tipikus telepeket a termékekben, azonban az első két hétben a mikrobák még jelen lehetnek az élelmiszerekben. Nem megfelelő konyhatechnikai elkészítés eredményeképpen a mikrobiológiailag kifogásolható termékek elfogyasztása a fogyasztók megbetegedéséhez is vezethet.

Zsálya illóolaja az általunk vizsgált nyers sütőkolbász mintamátrixban fokozatosan csökkentette a kóliformok számát, míg Petrová et al. (2013) nyers csirkemell mintája esetén még 2 v/v%-ban sem fejtett ki gátlóhatást. Ez a különbség azonban a minta eltérő összetételéből is adódhat, úgymint a zsír- és fehérjetartalom, nedvességtartalom vagy vízaktivitás vagy akár az eltérő pH érték (Misra és Jo, 2017; Ren et al., 2021;

Tajkarimi et al., 2010; ur Rahman et al., 2018; Zhou et al, 2010). A *Cl. perfringens* esetén az oregánó illóolaja, nagyobb koncentrációban adagolva, csökkenti a sejtszámot, melyet Juneja és Friedman (2007) megerősített vizsgálatuk során. Az élesztőgombákra is gátlóhatást fejtett ki, esetünkben már a tárolási idő első hete után nem mutattunk ki az oregánó illóolajjal kiegészített mintákból. A kakukkfű illóolaja kifejezetten hatékony *Cl. perfringens* ellen (Radelli et al., 2016; Eid et al., 2018), mely kísérletünk során is megfigyelhető volt. Míg Wafy et al. (2019) kísérlete alapján az 1,5%-ban adagolt kakukkfű illóolaj bírt a leghatékonyabb sejtszámcsökkentő hatással kóliformok esetén, a saját vizsgálataink során ez minden alkalmazott koncentráció esetén elmondható volt. Rozmaring illóolaj adagolásakor a kóliform sejtszáma csökkenhet, mely esetünkben meg is történt, El-Desouky et al. (2006) vizsgálatával szemben, ahol lassan nőttek a sejtszámok. A vizsgálatok alapján elmondható, hogy hústermékekhez oregánó illóolajat adagolva a kóliform és élesztő esetén sejtszámcsökkenéssel lehet számolni. Ez kakukkfű, bazsalikom és rozmaring illóolajok esetén is elmondható, ezáltal célszerű lehet adagolni őket különböző hústermékekhez.

A befertőzött májpestómminták esetén elmondható, hogy az illóolajok kétszeres MIC mennyiségben történő adagolás következtében tapasztalt sejtszámcsökkenés kismértékben jelentősebb volt, de ez a csökkenés sem a várt, több nagyságrendnyi, eredményeket adta. Az illóolajokat százszázalékos mennyiségben tartalmazták a májpestómminták. A szakirodalom szerint a termékekben lévő fehérje-, szénhidrát-, zsír-és egyéb összetevők erősen befolyásolják az illóolajok mikrobaellenes hatását (Misra és Jo, 2017; Ren et al., 2021; Tajkarimi et al., 2010; ur Rahman et al., 2018; Zhou et al, 2010), azonban 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 bevont bírálói panel miatt ($n=10$). Elmondható ugyanakkor, hogy már ekkora adagolt mennyiségekben átlagosan 32%-ban tudták azonosítani a kóstolók, hogy az adott minta milyen illóolajat tartalmazott. Az érzékszervi vizsgálatok eredményei alapján ugyanakkor az is elmondható, hogy a kakukkfű illóolaját 7,30 $\mu\text{L}/\text{mL}$ -es koncentrációban történő adalékolása során csupán a kóstolók 20%-a tudta azonosítani azt, hogy milyen növény illóolaja található a termékben.

Az elvégzett kísérletek alapján egyértelmű, hogy az élelmiszeriparban napjainkban használható gyógy- és fűszernövények szárított- vagy akár illóolajok formájában való technológiai felhasználása, akár mikrobagátlás akár az élvezeti érték növelése szempontjából is óvatosságra ad okot. Annak érdekében ugyanis, hogy szárított formában növelni tudjuk a termékek eltarthatóságát az adagolás mennyisége meghatározó jelentőséggel bír. Éredemes tehát a természetes tartósítási módszerek mellett egyéb mikrobagátló tényezők alkalmazása is, úgymint a hőkezelési paraméterek figyelembevétele, azaz a helyes elkészítési mód betartása. Ilyen tényező még a termékek beltartalmi paramétereinek aránya a csomagolás módja (aerob, anaerob mikrobagátlás) vagy a helyes pH érték megválasztása. Döntő fontosságú még a termékek vízaktivitása, amely a mikroorganizmusok szaporodási feltételeinek egyik legbefolyásolóbb tényezője. A szárított növények adagolása mellett számos esetben hallunk az illóolajok felhasználásáról és azok hatásainak vizsgálatáról is. A különböző növényekből származó illóolajok a bennük megtalálható biológiailag aktív komponensek révén egyértelműen mikrobagátló hatással rendelkeznek.

Vizsgálataink azonban jelen munkában nem terjedtek ki az egyes komponensek hatásainak vizsgálatára. Mindazonáltal az illóolajokban lévő komponensek élelmiszeripari felhasználása még sok kérdést felvetethet és adhat alapot további kutatások elvégzésére. Fontos megemlíteni azt is, hogy a megfelelő növények, azok kivonatának vagy illóolajainak kombinált alkalmazása lehetőséget adhat nemcsak célzottan egy-egy, hanem az adott élelmiszertípusra jellemző káros mikrobacsoportok szélésebb körű gátlására. Kutatásaink alapján elmondható ugyanis, hogy az egyes növények és azok felhasznált mennyisége nem ugyanolyan hatást váltanak ki az egyes mikroorganizmusokra. Éremdes lenne tehát vizsgálni az egyes növények kombinált felhasználási módjait és azok hatását a mikroorganizmusokra, mint egy új „természetes” kombinált tartósítási módozatot.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Az előkísérletek elvégzésekor a szárított gyógynövényekkel (saját termesztés) adagolt nyers kolbászmassza (saját bekeverés) vizsgálata során az *E. coli*, a kólifformok és az összes telepkepző egység szám a tárolás 2. hetétől csökkent a termékben, viszont a legkisebb sejtszámot eredményező koncentrációk eltérők voltak (*E. coli* esetén az 1,5%, a kólifform esetén a 0,5%, míg az összes telepkepző egység esetén az 1%). *Salmonella* és élesztőgomba és a penészgomba esetén elmondható, hogy nem volt hatása az adagolt szárított zsályának. Az előkísérlet elvégzése után döntöttünk az ipari körülmények közül származó kolbászmassza, illetve a bolti forgalomban is megvásárolható gyógy- és fűszernövények vizsgálata mellett, mivel ezek jobban modellezik az ipari körülmények között előforduló mikroflorát.

Az ipari körülmények közül származó (gyógynövény és nyers kolbászmassza), szárított zsályával kiegészített kolbászminták esetén az *E. coli*-ra nem volt gátló hatással a vizsgált növény. Ezzel ellentétben a kólifformok az összes telepkepző egység szám, valamint a *Salmonella* esetén a legnagyobb gyógynövény adagolási dózis esetén (2%) mikrobagátló hatást értünk el a tárolás különböző szakaszaiban. Szárított oregánó adagolásakor a mintákban a *Cl. perfringens* és a kólifform baktériumok száma a tárolási időszak 1. hetétől (élesztő esetén 2. hetétől) csökkenő tendenciát mutattak, a legkisebb sejtszámot eredményező gyógynövény koncentrációk azonban minden mintavétel napján változtak. Az oregánó adagolása egyik alkalmazott koncentrációban sem volt hatással az összes telepkepző egység számra. Szárított kakukkfű esetén a *Cl. perfringens* a kólifform baktériumok, és az élesztőgombák mennyiségében a gyógynövény hatására a

7. napra kismértékű csökkenést tapasztaltunk, nagyobb mértékűt a 21. napra. Összes telepkepző egységre nem volt szisztematikusan szignifikáns hatással a növény adagolása. *St. aureus* csak az első mintavételi napon (a növény bekeverésének napján) volt a mintákban, a további leoltások egyikében sem mutattuk ki. Szárított rozmaring adagolásakor a *Cl. perfringens* és a kóliform baktériumok vizsgálatakor szignifikáns csökkenést tapasztaltunk a sejtszámban. Ezzel ellentétben az élesztőgombák telepszáma fokozatosan nőtt minden minta esetén. *St. aureus*-t e gyógynövényt 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 tárolás első hetétől csökkent a *Cl. perfringens*, a kóliform baktériumok, valamint az élesztőgombák száma, a legkisebb sejtszámokért felelős koncentrációk azonban a különböző tárolási szakaszokban eltérően változtak. Az előző vizsgálatokhoz hasonlóan az adalékolás itt sem volt gátló hatással az összes telepkepző egység számra, ellenben ez esetben is csak az első leoltáskor volt *St. aureus* kimutatható a mintákban a tárolás további időtartamában már nem. A *Salmonella* esetén nem találtunk összefüggést a növény adagolás és a mikroorganizmus jelenléte/hiánya között.

A szárított gyógynövények vizsgálata után **a növényekből származó illóolajok hatását vizsgáltuk nyers sütőkolbász mintamátrixban.** A zsálya illóolajával kiegészített minták esetén a tárolás első hetétől csökkenést tapasztaltunk a *Cl. perfringens*, a kóliform baktériumok, valamint a penészgombaszám tekintetében, míg az élesztőgombákra és az összes telepkepző egység számra az adagolt gyógynövény illóolaj nem volt hatással. A vizsgálatok során a *St. aureus* és *Salmonella* csak a tárolás kezdete-

kor volt kimutatható a mintákból, a többi mintavételkor már nem. Az oregánó illóolajának hatásvizsgálata során elmondható, hogy a *Cl. perfringens* és a kóliform baktériumok gátló hatással rendelkeztek sütőkolbászmasszákból koncentrációtól függően, míg az összes telepkepző egység számára nem voltak kedvező hatással. Összes telepkepző egység számában a sejtszámok növekvő tendenciát mutattak mind a kontroll, mint az illóolajos mintákban, tehát nem találtunk összefüggést az adagolás és a gátló hatás között. *St. aureus* esetén a tárolás első hetére csak a kontroll mintában találtunk tipikus telepeket, így igazolható az oregánó hatóanyagának gátló hatása. A *Salmonella* esetén nem találtunk egyértelmű összefüggést a növény adagolás és a mikroorganizmus jelenléte/hiánya között. A kakukkfű illóolajának használata esetén *Cl. perfringens*, a *St. aureus*, a kóliform baktériumok, valamint az élesztőgombák esetén tapasztaltunk szignifikáns eltérést a kontroll mintához képest a különböző adagolási mennyiségek használatának és a tárolási idő hosszának függvényében. Az összes telepkepző egység szám a tárolási időszak harmadik hetéig emelkedett a 1,5%-os és 2%-os illóolaj adagolású minták kivételével. A *Salmonella* esetén nem találtunk egyértelmű összefüggést a kakukkfű illóolajának adagolása és a mikroorganizmus jelenléte/hiánya között. A rozmarying illóolajának termékbe való adagolásakor a *Cl. perfringens*, a kóliform baktériumok az élesztőgombák vizsgálata során gátló hatást tapasztaltunk az illóolaj adagolásának mennyisége és a tárolási idő függvényében. Valamint a fenti eredményektől eltérően a rozmarying esetén az összes telepkepző egység szám esetén is szignifikáns gátló hatást értünk el a 1,5 és 2%-os illóolaj adagolása esetén. Bazsalikom illóolajával történő kiegészítés esetén a minták *Cl. perfringens*, kóliform baktériumok, az élesztőszámok fertőzöttségének vizsgálatakor gátló hatást tapasztaltunk a tárolási időszak

különböző időpontjaiban az adagolt illóolaj koncentrációk függvényében. Az összes telepképző egységszám esetén nem igazoltuk a bazsalikom jó-tékony hatását a kontroll mintához képest. A *St. aureus*-t csak a termék gyártásakor történt eső vizsgálat alkalmával mutattunk ki a kontroll és a 0,5%-os minta esetén, amely valószínűsíti a bazsalikom illóolajának gátló hatását nagyobb adagolási dózis mellett. A *Salmonella* esetén nem találtunk összefüggést a növény adagolás és a mikroorganizmus jelenléte/hiánya között.

Az illóolajok termékben történő hatásvizsgálat után **meghatároztuk az egyes illóolajok, különböző mikroorganizmusokra (*E. coli*, *Salmonella*, *St. aureus*) kifejtett minimális gátlási koncentrációját (MIC)**. Az tapasztaltuk, hogy *E. coli* esetén a kerti kakukkfű (0,52 $\mu\text{L}/\text{mL}$) és a közönséges szurokfű (0,78 $\mu\text{L}/\text{mL}$), a *S. Typhimurium* esetén a kerti kakukkfű (3,65 $\mu\text{L}/\text{mL}$), bazsalikom (5,21 $\mu\text{L}/\text{mL}$), és a közönséges szurokfű (5,73 $\mu\text{L}/\text{mL}$), a *St. aureus* esetén pedig az orvosi zsálya (5,21 $\mu\text{L}/\text{mL}$) volt gátló hatással (≥ 10 mm) már kis koncentrációk esetén is.

A MIC értékek meghatározás után pedig termékekbe ezen koncentrációba adagolva vizsgáltuk az **illóolajok hatását, mesterségesen befertőzött kolbász mintatátrixban**. Az *E. coli*-val befertőzött kolbászmin-ták 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.

A kolbázminták után más típusú mintamátrixban vizsgáltuk az illóolajok MIC hatását az előzőekben kiválasztott mikroorganizmusokra. Ennek oka a minta hatékonyabb egyneműsíthetősége volt, ezért esett a választásunk májpestétom típusú termék gyártására. Az **egyszeres MIC mennyiségű illóolajjal kiegészített májpestétommintákban** az *E. coli*-val befertőzött minták esetén a 16. órától csökkenést tapasztaltunk, minden esetben. A 24. órától a kakukkfű illóolaját (0,52 µL/mL) tartalmazó mintában volt a legkisebb a sejtszám, míg az oregánó illóolajával (0,78 µL/mL) kiegészített minta sejtszáma és a kontroll sejtszáma között nem volt szignifikáns különbség. *Salmonella* esetén általában a 16. órától volt megfigyelhető sejtszám csökkenés, a bazsalikom illóolaja mellett (5,21 µL/mL) a baktérium végig a legkisebb sejtszámot mutatta. A sejtszámcsökkenés mindkét illóolajjal kiegészített minta esetén a várt mértékhez képest kismértékű volt. *St. aureus*-szal befertőzött minták esetén a kontroll esetén nagyobb volt a sejtszámcsökkenés, mint a zsálya illóolajával (5,21 µL/m) kiegészített minták esetén. A kísérlettől elvárt gátlási hatások mértékének növelése érdekében a továbbiakban kétszeres MIC koncentráció alkalmazásával vizsgáltuk az egyes illóolaj hatásokat.

A kétszeres minimális gátlási koncentrációval adagolt májpestétomokban *E. coli* esetén a 16. órától volt tapasztalható csökkenés az oregánó (1,56 µL/mL) és kakukkfű (1,04 µL/mL) illóolajokkal kiegészített mintákban, a kontroll esetén a vizsgálat végéig az *E. coli* sejtszám növekvő tendenciát mutatott a termékben. A 24. órától az oregánó illóolaja fejtette ki legnagyobb gátló hatását a kakkukfűhöz és a kontrollhoz képest. *Salmonella* esetén a kontroll mintában szintén nőtt a sejtszám, a vizsgálat végéig. Ezen mikroorganizmus esetén a kakukkfű illóolaját (7,3 µL/mL) tartal-

mazó mintában volt a legnagyobb a gátlás mértéke. A *St. aureus* baktériummal befertőzött esetben a kontroll minta esetén folyamatosan nőtt a sejtszám, a zsálya illóolaját kétszeres mennyiségben tartalmazó (10,42 $\mu\text{L}/\text{mL}$) mintákban a 24. órától szignifikáns különbséget tapasztaltunk, igazolva ezzel az illóolaj gátló hatását ezen mikróbával szemben.

7. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Igazoltam, hogy kolbászmasszához 0,5–2,0%-ban hozzáadott kakukkfű-, zsálya-, oregánó-, rozmaring- és bazsalikom-illóolajok nem befolyásolják az aerob mezofil mikrobák, az élesztő- és penészgombák, valamint a *Staphylococcus aureus* élősejtszámát, továbbá a *Salmonella* spp. jelenlétét/hiányát. 2%-os illóolaj-koncentráció alkalmazása mellett *Clostridium perfringens* és kóliformok nem voltak kimutathatók a termékekből az utolsó mintavétel időpontjában, azonban az első 14 napban ezek a mikrobák még jelen lehetnek a termékekben. A tapasztalt gátlás gyógynövényfüggő: a zsálya, az oregánó, a kakukkfű és a rozmaring a *Cl. perfringens*, míg a bazsalikom a *Cl. perfringens* és a kóliformok számát is 2-4 nagyságrenddel képes csökkenteni.
2. Mesterségesen befertőzött májpestis esetében igazoltam, hogy a minimális gátló koncentrációban ($1 \times \text{MIC}$) alkalmazott bazsalikom- és kakukkfű-illóolajok gátolták az *Escherichia coli* az illóolaj-adagolás 16. órájától kezdődően, és a kísérlet végére a kakukkfűnek volt nagyobb mikrobapusztító hatása a kontroll termékhez viszonyítva. *Salmonella* fajokra a bazsalikom fejtette ki a legnagyobb mértékű gátlóhatást, míg a *Staphylococcus aureus* sejtszáma nem csökkent szignifikáns mértékben a kontroll termékéhez képest.

-
3. Mesterségesen befertőzött májpástétomok esetében bizonyítottam, hogy a minimális gátló koncentrációban ($2 \times \text{MIC}$) alkalmazott oregánó- és kakukkfű-illóolajok gátolták az *Escherichia coli*-t az illóolaj-adagolás 16. órájától kezdődően, és a kísérlet 24. órájától az oregánónak volt nagyobb mértékű gátló hatása a kontroll mintához képest, melynek *E. coli*-sejtszámai a kísérlet teljes időtartama alatt növekvő tendenciát mutattak. Salmonella fajokra szintén az oregánó és a kakukkfű fejtett ki gátló hatást, míg *Staphylococcus aureus*-ra vonatkozóan a zsálya rendelkezett gátló hatással, a 24. órától, a kontroll mintával összehasonlítva.

 4. Igazoltam, hogy a laboratóriumi körülmények között meghatározott MIC-értéket a mintamátrixban történő alkalmazáskor számos tényező befolyásolhatja, pl. az alap- és adalékanyagok összetétele (fehérje-, zsír- és szénhidrát-tartalom, pH-érték), valamint a laboratóriumi mesterséges környezet (savval hidrolizált kazein, marhahús-kivonat, vízdoldható keményítő, tápközeg pH-értéke).

8. FELHASZNÁLT IRODALOM

1. Abdallah, M.; Alhababi, R.; Alqudah, N.; Aldyyat, B.; Alharthy, A. (2018): First report of carbapenem-resistant *Providencia stuartii* in Saudi Arabia, *New microbes and new infections*, 26, 107–109. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2018.09.007>
2. Abdel-Kader, M.S.; Soliman, G.A.; Alqarni, M.H.; Hamad, A.M.; Foudah, A.I.; Alqasoumi, S.I. (2019): Chemical composition and protective effect of *Juniperus sabina* L. essential oil against CCl₄ induced hepatotoxicity, *Saudi Pharmaceutical*, 27, 945-951. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2019.07.003>
3. Abdel-Sater, M.A.; Al-Sharjabi, F.A.; Al-Ashwal, E.S. (2017): Mycological and enzymatic studies on fresh beef meat sold in Taiz City, Yemen *European Journal of Biological Research*, 7, 337-347. <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.1037238>
4. Akbar, A.; Sitara, U.; Khan, S.A.; Ali, I.; Khan, M.I.; Phadungchob, T.; Anal, A.K. (2014): Presence of *Escherichia coli* in poultry meat: A potential food safety threat, *International Food Research Journal*, 21(3), 941-945.
5. Akhtar, S.; Paredes-Sabja, D.; Torres, J.A.; Sarker M.R. (2009): Strategy to inactivate *Clostridium perfringens* spores in meat products, *Food Microbiology*, 26(3), 272-277. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.12.011>
6. Al-Hijazeen, M.; Al-Rawashdeh, M. (2017): Preservative effects of rosemary extract (*Rosmarinus officinalis* L.) on quality and storage stability of chicken meat patties, *Food Science and Technology*, 20170–0.

7. Ali, M.A.; Takwa, H.I. (2010): Improvement of the quality and shelf-life of minced beef mixed with soyprotein by Sage (*Salvia officinalis*), *International Food Research Journal*, 17, 1125-1130.
8. Alimoradian, M.; Choobkar, N.; Aghajani, A. (2021): Effect of *Carum copticum* L. and *Salvia officinalis* L. Extracts on the Physicochemical, Microbial, and Sensory Characteristics of Heat Treated Sausage during Refrigerated Storage, *Journal of Agricultural Science and Technology*, 23(5), 1029-1042.
9. Anand, S.P.; Sati, N. (2017): Artificial preservatives and their harmful effects: Looking toward nature for safer alternatives, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 4, 2496-2501.
10. Angis, S.; Oguzhan, P. (2013): Effect of thyme essential oil and packaging treatments on chemical and microbiological properties of fresh rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during storage at refrigerator temperatures, *African Journal of Microbiology Research*, 7, 1136–1143.
11. Arnold, N.; Valentini, G.; Bellomaria, B.; Hocine, L. (1997): Comparative study of the essential oils from *Rosmarinus eriocalyx* Jordan & Fourr. from Algeria and *R. officinalis* L. from other countries, *Journal of Essential Oil Research*, 9, 167–175.
12. Badiie, P.; Nasirzadeh, A.R.; Motaffaf, M. (2012): Comparison of *Salvia officinalis* L. essential oil and antifungal agents against candida species, *Journal of Pharmaceutical Technology and Drug Research*, 1, 1–5.
13. Baj, T.; Baryluk, A.; Sieniawska, E. (2018): Application of mixture design for optimum antioxidant activity of mixtures of essential oils

-
- from *Ocimum basilicum* L, *Origanum majorana* L. and *Rosmarinus officinalis* L. *Industrial Crops and Products*, 115, 52-61.
14. Bakkali, F.; Averbeck, S.; Averbeck, D.; Idaomar, M. (2008): Biological effects of essential oils, A review, *Food Chemical Toxicology*, 46, 446–475.
 15. Baldim, J.L.; Silveira, J.G.; Almeida, A.P.F.; Carvalho, P.L.N.; Rosa, W.; Schripsema, J.; Chagas-Paula, D.A.; Soares, M.G.; Luiz, J.H.H. (2018): The synergistic effects of volatile constituents of *Ocimum basilicum* against foodborne pathogens, *Industrial Crops and Products*, 112, 821–829. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.12.016>
 16. Balouiri M.; Sadiki M.; Ibnsouda S.K. (2016): Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review, *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>.
 17. Bantawa, K.; Rai, L.; Limbu, D.S.; Khanal, H. (2018): Food-borne bacterial pathogens in marketed raw meat of Dharan, eastern Nepal, *BMC Research Notes*, 11, 618. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3722-x>
 18. Baran, W.L.; Kraft, A.A.; Walker, H.W. (1970): Effects of carbon dioxide and vacuum packaging on color and bacterial count of meat, *Journal of Food Protection*, Volume 33, Issue 3, 77-82. <https://doi.org/10.4315/0022-2747-33.3.77>.
 19. Baritoux, O.; Richard, H.; Touche, J.; Derbesy, M. (1992): Effects of drying and storage of herbs and spices on the essential oil, Part I. Basil, *Ocimum basilicum* L. *Flavour and Fragrance*, 7, 267-271. <https://doi.org/10.1002/ffj.2730070507>

-
20. Basavegowda, N.; Baek, K.H. (2021): Synergistic Antioxidant and Antibacterial Advantages of Essential Oils for Food Packaging Applications, *Molecules*, 11, 1267. <https://doi.org/10.3390/biom11091267>
 21. Bayir, H. (2005): Reactive oxygen species, *Critical care medicine*, 33, S498–S501. <https://doi.org/10.1097/01.ccm.0000186787.64500.12>
 22. Bell, C.; Kyriakides, A. (2009): 19 - *Listeria monocytogenes*, (szerk: de W. Blackburn, C.; McClure, P.J.) In *Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Foodborne Pathogens (Second Edition)*, Woodhead Publishing, 675-717. <https://doi.org/10.1533/9781845696337.2.675>.
 23. Bendiabdellah, A.; Dib, M.E.; Meliani, N.; Muselli, A.; Nassim, D.; Tabti, B.; Costa, J. (2013): Antibacterial activity of *Daucus crinitus* essential oils along the vegetative life of the plant, *Journal of Chemistry*. <https://doi.org/10.1155/2013/149502>
 24. Bhatia, A.; Zahoor, S. (2007): *Staphylococcus Aureus* Enterotoxins: A Review, *Journal of Clinical and Diagnostic Research* 3:188-197.
 25. Bhuyan, P.D.; Chutia, M.; Pathak, M.G.; Baruah, P. (2010): Effect of essential oils from *Lippia geminata* and *Cymbopogon jwarancusa* on in vitro growth and sporulation of two rice pathogens, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87, 1333-1340. <https://doi.org/10.1007/s11746-010-1620-z>
 26. Bicchi, C.; Binello, A.; Rubiolo, P. (2000): Determination of phenolic diterpene antioxidants in rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) with different methods of extraction and analysis, *Phytochemical*

-
- Analysis, 11, 236-242. [https://doi.org/10.1002/1099-1565\(200007/08\)11:4<236::AID-PCA503>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/1099-1565(200007/08)11:4<236::AID-PCA503>3.0.CO;2-B)
27. Binello, A.; Orio, L.; Pignata, G.; Nicola, S.; Chemat, F.; & Cravotto, G. (2014): Effect of microwaves on the in situ hydrodistillation of four different Lamiaceae, *Comptes Rendus Chimie*, 17, 181–186. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2013.11.007>.
28. Birk, T.; Grønlund, A.C.; Christensen, B.B.; Knøchel, S.; Lohse, K.; Rosenquist, H. (2010): Effect of Organic Acids and Marination Ingredients on the Survival of *Campylobacter jejuni* on Meat, *Journal of Food Protection*, 73 (2): 258–265. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-73.2.258>
29. Bíró, G. (2014): *Élelmiszerhigiéna*, *Agroinform Kiadó*, Budapest
30. Bonardi, S.; Bassi, L.; Brindani, F.; D'Incau, M.; Barco, L.; Carra, E.; Pongolini, S. (2013): Prevalence, characterization and antimicrobial susceptibility of *Salmonella enterica* and *Yersinia enterocolitica* in pigs at slaughter in Italy, *International Journal of Food Microbiology*, 163(2–3), 248-257. <https://doi.org/10.1016/j.ijfood-micro.2013.02.012>
31. Borch, E.; Nesbakken, T.; Christensen, H. (1996): Hazard identification in swine slaughter with respect to foodborne bacteria, *International Journal of Food Microbiology*, 30(1–2), 9-25. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(96\)00988-9](https://doi.org/10.1016/0168-1605(96)00988-9)
32. Boskovic, M.; Djrodjevic, J.; Ivanovic, J.; Janjic, J., Zdravkovic, N.; Glisic, M.; Glamoclija, N.; Baltic, B.; Djrodjevic, V.; Baltic, M. (2017): Inhibition of *Salmonella* by thyme essential oil and its effect on microbiological and sensory properties of minced pork meat packaged under vacuum and modified atmosphere, *International*

-
- Journal of Food Microbiology, 258, 58-67.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.07.011>.
33. Boskovic, M.; Zdravkovic, N.; Ivanovic, J.; Janjic, J.; Djordjevic, J.; Starcevic, M.; Baltic, M. Z. (2015): Antimicrobial activity of thyme (*Tymus vulgaris*) and oregano (*Origanum vulgare*) essential oils against some food-borne microorganisms, *Procedia Food Science*, 5, 18-21. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2015.09.005>
34. Bouddine, L.; Louaste, B.; Achahbar, S.; Chami, N.; Chami, F.; Remmal, A. (2012): Comparative study of the antifungal activity of some essential oils and their major phenolic components against *Aspergillus niger* using three different methods, *African Journal of Biotechnology*, 11, 14083–14087.
35. Boutekedjiret, C.; Belabbes, R.; Bentahar, F.; Bessière, J.-M. (1999): Study of *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oil Yield and Composition as a Function of the Plant Life Cycle, *The Journal of Essential Oil Research*, 11, 238-240. <https://doi.org/10.1080/10412905.1999.9701120>.
36. Burt, S. (2004): Essential oils, their antibacterial properties and potential applications in foods – A review, *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223-253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>
37. Burt, S.A.; Reinders, R.D. (2003): Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7, *Letters in Applied Microbiology* 36, 162–167.
38. Busatta, C.; Vidal, R.S.; Popiolski, A.S.; Mossi, A.J.; Dariva, C.; Rodrigues, M.R.A.; Corazza, F.C.; Corazza, M.L.; Oliveira, J.V.;

-
- Cansian, R.L. (2008): Application of *Origanum majorana* L. essential oil as an antimicrobial agent in sausage, *Food Microbiology*, 25, 207-201. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2007.07.003>
39. Cavadini, C.; Hertel, C.; Hammes, W.P. (1998): Application of lysostaphin-producing lactobacilli to control staphylococcal food poisoning in meat products, *Journal of Food Protection*, 61, 419-424. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-61.4.419>
40. Cazella, L.N., Glamoclija, J., Soković, M., Gonçalves, J.E., Linde, G.A., Coluato, N.B., Gazim, Z.C. (2019): Antimicrobial activity of essential oil of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) aerial parts at flowering period, *Frontiers in Plant Science*, 10, 27. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00027>
41. Chaibenjawong, P.; Foster, S.J. (2011): Desiccation tolerance in *Staphylococcus aureus*, *Archives of Microbiology*, 193 (2), 125–135. <https://doi.org/10.1007/s00203-010-0653-x>
42. Chan, K.F.; Tran, H.L.; Kanenaka, R.Y.; Kathariou, S. (2001): Survival of clinical and poultry-derived isolates of *Campylobacter jejuni* at a low temperature (4°C), *Applied and Environmental Microbiology*, 67 (9), 4186-4191. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.9.4186-4191.2001>
43. Chaves-López, C.; Martin-Sanchez, A.M.; Fuentes-Zaragoza, E.; Viuda-Martos, M.; Fernandez-Lopez, J.; Sendra, E.; Sayas, E.; Alvarez, J.A.P. (2012): Role of Oregano (*Origanum vulgare*) Essential Oil as a Surface Fungus Inhibitor on Fermented Sausages: Evaluation of Its Effect on Microbial and Physicochemical Characteristics, *Journal of Food Protection*, 75, 104-111. https://doi.org/10.4315/0362-028x_jfp-11-184

-
44. Chien, S. Y.; Sheen, S.S.; Sommers, C.H.; Shee, L. Y. (2016): Modeling the inactivation of intestinal pathogenic *Escherichia coli* O157:H7 and uropathogenic *E. coli* in ground chicken by high pressure processing and thymol, *Frontiers in Microbiology*, 7, 920. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00920>
 45. Christopher, B. (2008): *RHS A-Z Encyclopedia of Garden Plants*, Dorling Kindersley, Egyesült Királyság.
 46. Chutia, M.; Bhuyan, P.D.; Pathak, M.G.; Sarma, T.C.; Boruah, P. (2009): Antifungal activity and chemical composition of *Citrus reticulata* Blanco essential oil against phytopathogens from North East India, *LWT-Food Science and Technology*, 42, 777-780. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.09.015>
 47. Coelho, L.A.F.; Oliveira, J.V.; D'Ávila, S.G.; Vilegas, J.H.Y.; Lanças, F.M. (1997): SFE of rosemary oil: Assessment of the influence of process variables and extract characterization, *Journal of High Resolution Chromatography*, 20, 431-436. <https://doi.org/10.1002/jhrc.1240200807>
 48. Colagiorgi A.; Bruini I.; Di Ciccio P.A.; Zanardi E.; Ghidini S.; Iannieri A. (2017): *Listeria monocytogenes* Biofilms in the Wonderland of Food Industry, *Pathogens*, 6(3), 41. <https://doi.org/10.3390/pathogens6030041>
 49. Cowden, J. M. (1997): Scottish outbreak of *Escherichia coli* O157, November-December 1996, *Eurosurveillance Monthly*, 2, 1-2. <https://doi.org/10.2807/esm.02.01.00134-en>
 50. Cowden, J.M.; Ahmed, S.; Donaghy, M.; Riley, A. (2001): Epidemiological investigation of the Central Scotland outbreak of *Esche-*

-
- richia coli O157 infection, November to December 1996, *Epidemiology & Infection*, 126, 335-341. <https://doi.org/10.1017/S0950268801005520>
51. Datiles, M.J.; Acevedo-Rodríguez, P. (2022): *Rosmarinus officinalis* (rosemary), CABI Compendium, CABI International. <https://doi.org/10.1079/cabicompendium.47678>
 52. Dave, D.; Ghaly, A. E. (2011): Meat Spoilage Mechanisms and Preservation Techniques: A Critical Review, *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 6, 486-510. <https://doi.org/10.3844/ajabssp.2011.486.510>
 53. de Carvalho, R.J.; de Souza, G.T.; Honório, V.G.; Jossana Pereira de Sousa, da Conceição, M.L.; Maganani, M.; de Souza, E.L. (2015): Comparative inhibitory effects of *Thymus vulgaris* L. essential oil against *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and mesophilic starter co-culture in cheese-mimicking models, *Food Microbiology*, 52, 59-65. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.07.003>.
 54. de Medeiros Barbosa, I.; da Costa Medeiros, J.A.; de Oliveira, K.Á.R.; Gomes-Neto, N.J.; Tavares, J.F.; Magnani, M.; de Souza, E.L. (2016): Efficacy of the combined application of oregano and rosemary essential oils for the control of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Enteritidis* in leafy vegetables, *Food Control*, 59, 468-477. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.06.017>.
 55. Deák, T.; Kiskó, G.; Maráz, A.; Mohácsiné Farkas, Cs. (2006): *Élelmiszer-mikrobiológia*, Mezőgazda Kiadó.

-
56. Delmore, R.J.; Sofos, J.N.; Schmidt, G.R.; Belk, K.E.; Lloyd, W.R.; Smith, G.C. (2000): Interventions to reduce microbiological contamination of beef variety meats, *Journal of Food Protection*, 63, 44-50. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-63.1.44>
 57. Dobre, A.; Gagiú, V.; Petru, N. (2011): Antimicrobial activity of essential oils against food-borne bacteria evaluated by two preliminary methods, *Romanian Biotechnology Letters*, 16, 119–125.
 58. Donnenber, M.S.; Whittam, T.S. (2001): Pathogenesis and evolution of virulence in enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli*, *Journal of Clinical Investigation*, 107(5), 539-548. <https://doi.org/10.1172/JCI12404>.
 59. Doulgeraki, A.I.; Ercolini, D.; Villani, F.; Nychas, G.J.I. (2012): Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions, *International Journal of Food Microbiology*, 157(2), 130–141.
 60. Drevets, D.A.; Bronze, M.S. (2008): *Listeria monocytogenes* : epidemiology, human disease, and mechanisms of brain invasion, *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 53 (2), 151–165. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2008.00404.x>
 61. Duan, R.; Liang, J.; Shi, G.; Cui, Z.; Hai, Wang, P.; Xiao, Y. (2014): Homology Analysis of Pathogenic *Yersinia* Species *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*, and *Yersinia pestis* Based on Multilocus Sequence Typing, *Journal of Clinical Microbiology*, 52(1). <https://doi.org/10.1128/JCM.02185-13>
 62. Durling, N.; Catchpole, O.; Grey, J.; Webby, R.; Mitchell, K.; Foo, L.; Perry, N. (2007): Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol–water mixtures. *Food*

-
- Chemistry, 101, <https://doi.org/1417-1424>. 10.1016/j.foodchem.2006.03.050.
63. Eid, N.M.; Dahshan, Al-H.M.; El-Nahass El-S; Shalaby B.; Ali. A. (2018): Anticlostridial activity of the thyme and clove essential oils against experimentally induced necrotic enteritis in commercial broiler chickens. *Veterinary Sciences: Research and Reviews*, 4(1), 25-34. <http://dx.doi.org/10.17582/journal.vsr/2018/4.1.25.34>
64. el Adab, S.; Hassouna, M. (2016): Proteolysis, Lipolysis and Sensory Characteristics of a Tunisian Dry Fermented Poultry Meat Sausage with Oregano and Thyme Essential Oils, *Journal of Food Safety*, 36, 19-32. <https://doi.org/10.1111/jfs.12209>
65. El Jery, A.; Hasan, M.; Rashid, M.M.; Al Mesfer, M.K.; Danish, M.; Rebah, F.B. (2020): Phytochemical characterization, and antioxidant and antimicrobial activities of essential oil from leaves of the common sage *Salvia officinalis* L. from Abha, Saudi Arabia, *Asian Biomedicine*, 14(6), 261-271. <https://doi.org/10.1515/abm-2020-0035>
66. Elamrani, A.; Zrira, S.; Benjilali, B.; Berrada, M. (2000): A Study of Moroccan Rosemary Oils, *Journal of Essential Oil Research*, 12(4), 487–495. <https://doi.org/10.1080/10412905.2000.9699572>
67. El-Azzouny, M.M.; El-Demerdash, A.S.; Seadawy, H.G.; Abou-Khadra, S.H. (2018): Antimicrobial effect of garlic (*Allium sativum*) and thyme (*Zataria multiflora* Boiss) extracts on some foodborne pathogens and their effect on virulence gene expression, *Cellular and Molecular Biology*, 64, 79–86.
68. El-Desouky, A.I.; Bahlol, H.E.M.; Sharoba, A.M.A. (2006): Effect of saome essential oils and preservatives on the growth of *E. coli*

-
- O157:H7 and quality of refrigerated minced meat, *Annals of Agricultural Sciences*, 44(4), 1675-1695.
69. Ellouze, M.; Da Silva N.B.; Rouzeau-Szynalski, K.; Coisne, L.; Cattergiani, F.; Baranyi, J. (2021): Modeling *Bacillus cereus* Growth and Cereulide Formation in Cereal-, Dairy-, Meat-, Vegetable-Based Food and Culture Medium, *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.639546>
70. Escobar, A.; Pérez, M.; Romanelli, G.; Blustein, G. (2020): Thymol bioactivity, A review focusing on practical applications, *Arabian Journal of Chemistry*, 13, 9243-9269.
71. Falowo, A.B.; Mukumbo, F.E.; Idamokoro, E.M.; Afolayan, A.J.; Muchenje, M.V. (2019): Phytochemical Constituents and Antioxidant Activity of Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) Essential Oil on Ground Beef from Boran and Nguni Cattle, *International Journal of Food Science*. <https://doi.org/10.1155/2019/2628747>
72. Fang, X.; Wada, S. (1993): Enhancing the antioxidant effect of α -tocopherol with rosemary in inhibiting catalyzed oxidation caused by Fe²⁺ and hemoprotein, *Food Research International*, 26, 405–411.
73. Favaro, L.; Todorov, S.D. (2017): Bacteriocinogenic LAB strains for fermented meat preservation: Perspectives, challenges, and limitations, *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 9, 444-458. <https://doi.org/10.1007/s12602-017-9330-6>
74. Felin, E. (2019): Towards Risk-Based Meat Inspection: Prerequisites of Risk-Based Meat Inspection of Pigs in Finland. Ph.D. Tézis, University of Helsinki, Helsinki, Finland.

-
75. Feng, C.H.; Drummond, L.; Sun, D.W. (2014): Modelling the growth parameters of lactic acid bacteria and total viable count in vacuum-packaged Irish cooked sausages cooled by different methods, *International Journal of Food Science Technology*, 49, 2659-2667. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12603>
 76. Fernández-Pan, I.; Royo, M.; Ignacio Maté, J. (2012): Antimicrobial activity of whey protein isolate edible films with essential oils against food spoilers and foodborne pathogens, *Journal of Food Science*, 77 (7), 383–390.
 77. Filip, S.; Vidović, S.; Vladić, J.; Pavlić, B.; Adamović, D.; Zeković, Z. (2016): Chemical composition and antioxidant properties of *Ocimum basilicum* L. extracts obtained by supercritical carbon dioxide extraction: Drug exhausting method, *Journal of Supercritical Fluids*, 109, 20–25. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2015.11.006>
 78. Food Safety (2013): Microbiological safety of raw minced beef and beef burgers on retail sale in Ireland (11NS1).
 79. Fournomiti, M.; Kimbaris, A.; Mantzourani, I.; Plessas, S.; Theodoridou, I.; Papaemmanouil, V.; Kapsiotis, I.; Stavropoulou, M.P.E.; Bezirtzoglou, E.E.; Athanasios Alexopoulos (2015): Antimicrobial activity of essential oils of cultivated oregano (*Origanum vulgare*), sage (*Salvia officinalis*), and thyme (*Thymus vulgaris*) against clinical isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, and *Klebsiella pneumoniae*, *Microbial Ecology in Health and Disease*, 26:1, <https://doi.org/10.3402/mehd.v26.23289>
 80. Friedman, M.; Henika, P.R.; Levin, C.E.; Mandrell, R.E. (2007): Recipes for antimicrobial wine marinades against *Bacillus cereus*,

-
- Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica*, *Journal Food Science*, 72 (6), 207–213.
81. Gaio, I.; Saggiorato, A.G.; Treichel, H.; Cichoski, A.J.; Astolfi, V.; Cardoso, R.I.; Toniazzo, G.; Valduga, E.; Paroul, N.; Cansian, R.L. (2015): Antibacterial activity of basil essential oil (*Ocimum basilicum* L.) in Italian-type sausage, *Journal Für Verbraucherschutz Und Lebensmittelsicherheit*, 10, 323–329. <https://doi.org/10.1007/s00003-015-0936-x>
82. Ghabraie, M.; Vu, K.D.; Tata, L.; Salmieri, S.; Lacroix, M. (2016): Antimicrobial effect of essential oils in combinations against five bacteria and their effect on sensorial quality of ground meat, *LWT-Food Science and Technology*, 66, 332-339. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.055>
83. Ghrairi, T.; Hani, K. (2015): Enhanced bactericidal effect of enterocin A in combination with thyme essential oils against *L. monocytogenes* and *E. coli* O157:H7, *Journal of Food Science and Technology*, 52, 2148–2156. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1214-5>
84. Giannenas, I.; Sidiropoulou, E.; Bonos, E.; Christaki, E.; Florou-Paneri, P. (2020): The history of herbs, medicinal and aromatic plants, and their extracts: Past, current situation and future perspectives, In: Florou-Paneri, P., Christaki, E., Giannenas, I. (szerk.): *Feed Additives: Aromatic Plants and Herbs in Animal Nutrition and Health*, Academic Press, Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814700-9.00001-7>
85. Giatrakou, V.; Ntzimani, A.; Savvaidis, I.N. (2010): Effect of chitosan and thyme oil on a ready to cook chicken product, *Food Microbiology*, 27(1), 132-136. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.09.005>

-
86. Giugnolinini I. (1985): *Erbe Secondo Natura, Secondo Natura Laboratorio Grafico, Vignate, Milano.*
 87. Golden, N.J.; Crouch, E.A.; Latimer, H.; Kadyr, A.R.; Kause, J. (2009): Risk Assessment for *Clostridium perfringens* in Ready-to-Eat and Partially Cooked Meat and Poultry Products, *Journal of Food Protection*, 72(7), 1376-1384.
 88. Gómez, I.; Janardhanan, R.; Ibañez, F.C.; Beriain, M.J. (2020): The Effects of Processing and Preservation Technologies on Meat Quality: Sensory and Nutritional Aspects, *Foods*, 9(10), 1416. <https://doi.org/10.3390/foods9101416>
 89. Gordon, M.H. (1990): The mechanism of antioxidant action in vitro, In *Food Antioxidants: Hudson, B.J.F. (szerk.): Elsevier Science Publishing: New York, USA, 1–18.*
 90. Graumann, G.H.; Holley, R.A. (2008): Inhibition of *Escherichia coli* O157.H7 in ripening dry fermented sausage by ground yellow mustard, *Journal of Food Protection*, 71, 486-493. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-71.3.486>
 91. Gu, Y.; Yang, L.; Huo, H.Q.; Zhou, L.Z., Wen, R.S.; Zhu, Y.J. (2019): Essential oil yield in *Eucalyptus citriodora* in relation to foliage age after pollarding and tree age, *Journal of Tropical Forest Science*, 31, 452-458.
 92. Guazzi E.; Maccioni S.; Monti G.; Flamini G.; Cioni P.L.; Morelli I. (2001) *Rosmarinus officinalis* L. in the gravine of Palagianello (Taranto, South Italy), *Journal of Essential Oil Research*, 13(4), 231-233.
 93. Guyard-Nicodème, M; Rivoal, K.; Houard, E.; Rose, V.; Quesne, S.; Mourand, G.; Rouxel, S.; Kempf, I.; Guillier, L.; Gauchard, F.;

-
- Chemaly, M. (2015): Prevalence and characterization of *Campylobacter jejuni* from chicken meat sold in French retail outlets, *International Journal of Food Microbiology*, 203, 8-14, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.02.013>.
94. Gündüz, G.T.; Niemira, B.A.; Gönül, Ş.A.; Karapinar, M. (2012): Antimicrobial activity of oregano oil on iceberg lettuce with different attachment conditions, *Journal of Food Science*, 77(7), 412–415.
95. Hailegebreal, G. (2017): A Review on *Clostridium perfringens* food poisoning, *Global Research Journal of Public Health and Epidemiology*, 4, 104–109.
96. Hansen, E.; Juncher, D.; Henckel, P.; Karlsson, A.; Bertelsen, G.; Skibsted, L. H. (2004): Oxidative stability of chilled pork chops following long term freeze storage, *Meat Science*, 68, 479-484. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.05.002>
97. Hardin, M.D. (2016): Factory affecting the shelf life of meat products, *Reference Module in Food Science*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.03312-6>
98. Hennekinne, J.-A.; Herbin, S.; Firmesse, O.; Auvray, F. (2015): European Food Poisoning Outbreaks Involving Meat and Meat-based Products, *Procedia Food Science*, 5, 93-96. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2015.09.024>.
99. Hocking, A.D. (2006); 17 - *Aspergillus* and related teleomorphs, Editor(s): Clive de W. Blackburn, In *Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Food Spoilage Microorganisms*, Woodhead Publishing, 451-487

-
100. Hof, H.; Rocourt, J. (1992): Is any strain isolated detected in food a health risk? *International Journal of Food Microbiology*, 16, 683–692.
 101. Horn, N.; Bhunia, A.K. (2018): Food-associated stress primes foodborne pathogens for the gastrointestinal phase of infection, *Frontiers in Microbiology*, 9, 1962. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01962>
 102. Howard, S.L.; Gaunt, M.W.; Hinds, J.; Witney, A.A.; Stabler, R.; Wren, B.W. (2006): Application of comparative phylogenomics to study the evolution of *Yersinia enterocolitica* and to identify genetic differences relating to pathogenicity, *Journal of Bacteriology*, 188(10). <https://doi.org/10.1128/JB.188.10.3645-3653.2006>
 103. Hu, W.S.; Kim, H.; Koo, Q.K. (2018): Molecular genotyping, biofilm formation and antibiotic resistance of enterotoxigenic *Clostridium perfringens* isolated from meat supplied to school cafeterias in South Korea, *Anaerobe*, 52, 115-121. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2018.06.011>
 104. Hyldgaard, M.; Mygdal, T.; Meyer, R.L. (2012): Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components, *Frontiers in Microbiology*, 3, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00012>
 105. Ilic, A.S.; Antic, M.P.; Jelacic, S.C.; Solevic-Knudsen, T.M. (2019): Chemical Composition of the Essential Oils of Three *Ocimum Basilicum* L. Cultivars from Serbia, *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 47, 347–351. <https://doi.org/10.15835/nbha47111250>.

-
106. Jarvis, N.A.; O'Bryan, C.A.; Dawoud, T.M.; Park, S.H.; Kwon, Y.M.; Crandall, P.G.; Ricke, S.C. (2016): An overview of *Salmonella* thermal destruction during food processing and preparation, *Food Control*, 68, 280-290, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.04.006>.
107. Javanmardi, J.; Khalighi, A.; Kashi, A.; Bais, H. P.; Vivanco, J. M. (2002): Chemical Characterization of Basil (*Ocimum Basilicum* L.) Found in Local Accessions and Used in Traditional Medicines in Iran, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 5878–5883.
108. Ježek, F.; Kameník, J.; Macharáčková, B.; Bogdanovičová, K.; Bedná, J. (2019): Cooking of meat, effect on texture, cooking loss and microbiological quality – a review, *Acta Veterinaria Brno*, 88, 487-496. <https://doi.org/10.2754/avb201988040487>
109. Ju, J.; Xie, Y.F.; Guo, Y.H.; Cheng, Y.L.; Qian, H.; Yao, W.R. (2018): The inhibitory effect of plant essential oils on foodborne pathogenic bacteria in food, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59, 3281-3292. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1488159>
110. Juneja, V.K., Friedman, M. (2007): Carvacrol, Cinnamaldehyde, Oregano Oil, and Thymol Inhibit *Clostridium perfringens* Spore Germination and Outgrowth in Ground Turkey during Chilling, *Journal of Food Protection*, 70, 1, 218-222. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-70.1.218>
111. Juneja, V.K.; Thippareddi, H.; Friedman, M. (2006): Control of *Clostridium perfringens* in Cooked Ground Beef by Carvacrol, Cinnamaldehyde, Thymol, or Oregano Oil during Chilling, *Journal of*

-
- Food Protection, 69, 7, 1546-1551. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-69.7.1546>.
112. Kakaraparathi, P.S.; Satya Srinivas, K.V.N.; Kumar, J.K.; Kumar, A.N.; Kumar A. (2015): Composition of herb and seed oil and antimicrobial activity of the essential oil of two varieties of *Ocimum basilicum* harvested at short time intervals, *Journal of Plant Development Sciences*, 22, 59-76.
113. Kalinowska-Lis, U.; Felczak, A.; Chęcińska, L.; Zawadzka, K.; Patyna, E.; Lisowska, K.; Ochocki, J. (2014): Synthesis, characterization and antimicrobial activity of water-soluble silver(I) complexes of metronidazole drug and selected counter-ions, *Dalton Transactions*, 44, 8178-8189.
114. Kanatt, S.W.; Chander, R.; Sharma, A. (2008): Chitosan and mint mixture: A new preservative for meat and meat products, *Food Chemistry*, 107, 845-852. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.08.088>
115. Karamanos, A.J. (2000): Cultivation and breeding, In *The Cultivation of Sage*, Sage: (szerk: Kintzios, S.E.), 14, Taylor & Francis e-Library, Amsterdam, 93–108.
116. Kassem, G.M.; Atta-Alla, O.A.; Ali, F.H.M. (2011): Improving the quality of beef burger by adding thyme essential oil and jojoba oil, *Archivos de Zootecnia*, 60, 787-795.
117. Kerekes, E.B.; Vidács, A.; Török Jenei, J.; Gömöri, Cs.; Takó, M.; Chandrasekaran, M.; Kadaikunnan, S.; Alharbi, N.S.; Krisch, J.; Várvolgyi, Cs. (2015): Essential oils against bacterial biofilm forma-

-
- tion and quorum sensing of food-borne pathogens and spoilage microorganisms, Basic Science, Technological Advances and Educational Programs, 1.
118. Khalil, R.; Li, Z-G. (2011): Antimicrobial activity of essential oil of *Salvia officinalis* L. collected in Syria, African Journal of Biotechnology, 10(42), 8397-8402. <https://doi.org/10.5897/AJB10.2615>
119. Klaric, M.S.; Kosalec, I.; Mastelic, J.; Pieckova, E.; Pepeljnak, S. (2007): Antifungal activity of thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil and thymol against moulds from damp dwellings, Letters in Applied Microbiology, 44, 36–42.
120. Kong, L.; Yu, S.; Yuan, X.; Li, C.; Yu, P.; Wang, J.; Guo, H.; Wu, S.; Ye, Q.; Lei, T.; Yang, X.; Zhang, Y.; Wei, X.; Zeng, H.; Zhang, J.; Wu, Q.; Ding, Y. (2021): An Investigation on the Occurrence and Molecular Characterization of *Bacillus cereus* in Meat and Meat Products in China, Foodborne Pathogens and Disease, 18(5), 306-314.
121. Kotsiou, K.; Tasioula-Margari, M.; Kukurová, K.; Ciesarová, Z. (2010): Impact of oregano and virgin olive oil phenolic compounds on acrylamide content in a model system and fresh potatoes, Food Chemistry, 123 (4), 1149–1155.
122. Kumar, A.; Shukla, R.; Singh, P.; Prasad, C.S.; Dube, N.K. (2008): Assessment of *Thymus vulgaris* L. essential oil as a safe botanical preservative against post harvest fungal infestation of food commodities, Innovative Food Science and Emerging Technologies, 9, 575–580.
123. Kunicka-Styczyńska, A. (2011): Activity of essential oils against food-spoiling yeast, A review, Flavour and Fragrance Journal, 26, 326-328. <https://doi.org/10.1002/ffj.2046>

-
124. Labbe, R.G.; Duncan, C.L. (1969): Growth from Spores of *Clostridium perfringens* in the Presence of Sodium Nitrite, *Applied Microbiology*, 19(2), 353-359
125. Lages, L.Z.; Radünz, M.; Gonçalves, B.T.; da Rosa, R.S.; Fouchy, M.V.; de Cássia dos Santos da Conceição, R.; Gularte, M.A.; Mendonça, C.R.B.; Gandra, E.A. (2021): Microbiological and sensory evaluation of meat sausage using thyme (*Thymus vulgaris*, L.) essential oil and powdered beet juice (*Beta vulgaris* L., Early Wonder cultivar), *LWT*, 148. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111794>.
126. Lakinowska-Lis, U.; Felczak, A.; Chęcińska, L.; Zawadzka, K.; Patyna, E.; Lisowska, K.; Ochocki, J. (2015): Synthesis, characterization and antimicrobial activity of water-soluble silver(i) complexes of metronidazole drug and selected counter-ions, *Dalton Transactions*, 17. <https://doi.org/10.1039/C5DT00403A>
127. Lambert, R.J.W.; Skandamis, P.N.; Coote, P.J.; Nychas, G.J. (2001): A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol, *Journal of Applied Microbiology*, 91, 453-462. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01428.x>
128. Le Loir, Y.; Baron, F.; Gautier, M. (2003): *Staphylococcus aureus* and food poisoning, *Genetics and molecular research: GMR*, 2 (1), 63-76
129. Lee, H.Y.; Yoon, Y.H. (2021): Etiological agents implicated in foodborne illness world wide, *Food Science and Animal Research*, 41, 1-7. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2020.e75>

-
130. Leygonie, C.; Britz, T.J.; Louwrens C. Hoffman, L.C. (2012): Impact of freezing and thawing on the quality of meat: Review, *Meat Science*, 91, 93-98. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.01.013>
131. Li, B.; Zheng, K.; Lu, J.; Zeng, D.; Xiang, Q.; Ma, Y. (2022): Antibacterial characteristics of oregano essential oil and its mechanisms against *Escherichia coli* O157:H7, *Food Measure* 16, 2989–2998. <https://doi.org/10.1007/s11694-022-01393-3>
132. Li, J.; McClane, B.A. (2006a): Comparative Effects of Osmotic, Sodium Nitrite-Induced, and pH-Induced Stress on Growth and Survival of *Clostridium perfringens* Type A Isolates Carrying Chromosomal or Plasmid-Borne Enterotoxin Genes, *Applied and Environmental Microbiology*, 72(12). <https://doi.org/10.1128/AEM.01911-06>
133. Li, J.; McClane, B.A. (2006b): Further Comparison of Temperature Effects on Growth and Survival of *Clostridium perfringens* Type A Isolates Carrying a Chromosomal or Plasmid-Borne Enterotoxin Gene, *Applied and Environmental Microbiology*, 72(7). <https://doi.org/10.1128/AEM.00177-06>
134. Lin, K.; Lin, A.N.; Linn, S.; Reddy, M.; Bakshi, A. (2017): Recurrent Primary Suprahepatic Abscess Due to *Providencia Stuartii*: A Rare Phenomenon, *Cureus*, 9(9), e1691. <https://doi.org/10.7759/cureus.1691>
135. Lopez-Bote, C.J.; Gray, J.I.; Gomaa, E.A.; Flegal, C.J. (1998): Effect of dietary administration of oil extracts from rosemary and sage on lipid oxidation in broiler meat, *British Poultry Science*, 39, 235–240.

-
136. Lopez-Reyes, J.G.; Spadaro, D.; Gullino, M.L.; Garibaldi, A. (2010): Efficacy of plant essential oils on postharvest control of rot caused by fungi on four cultivars of apples in vivo, *Flavour and Fragrance Journal*, 25 (3), 171–177.
137. Luciano, F. B.; Holley, R. A. (2009): Enzymatic inhibition by allyl isothiocyanate and factors affecting its antimicrobial action against *Escherichia coli* O157:H7, *International Journal of Food Microbiology*, 131(2-3), 240-245.
138. Lund, B.M. (2019): Provision of microbiologically safe food for vulnerable people in hospitals, care homes and in the community, *Food Control*, 96, 5375-547. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.09.032>
139. Lund, B.M.; Peck, M.W. (2013): *Clostridium botulinum*, *Guide to Foodborne Pathogens*, 91-111. <https://doi.org/10.1002/9781118684856.ch6>
140. Lv, F.; Liang, H.; Yuan, Q.P.; Li, C.F. (2011): In vitro antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food-related microorganisms, *Food Research International*, 44, 3057-3064. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.07.030>
141. Mahmoudi, H.; Marzouki, M.; M'Rabet, Y.; Mezni, M.; Ouazzou, A.A.; Hosni, K. (2020): Enzyme pretreatment improves the recovery of bioactive phytochemicals from sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves and their hydrodistilled residue by-products, and potentiates their biological activities, *Arabian Journal of Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.06.003>.

-
142. Mani-López, E.; García, H.S.; López-Malo, A. (2012): Organic acids as antimicrobials to control Salmonella in meat and poultry products, *Food Research International*, 45 (2), 713-721. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.043>.
143. Maslanka, S.E.; Solomon, H.M.; Sharma, S.; Johnson, E.A. (2013): Clostridium botulinum and its Toxins in *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (szerk.: Salfinger, Y.; Tortorello, M.L.)
144. Medina-Córdova, N.; Rosales-Mendoza, S.; Hernández-Montiel, L.G.; Angulo, C. (2018): The potential use of *Debaryomyces hansenii* for the biological control of pathogenic fungi in food, *Biological Control*, 121, 216–222. <https://doi.org/10.1016/j>.
145. Mejdoub R.; Katsiotis S. (1998): Factors influencing the yield and the quality of the obtaining essential oil from the leaves of *Eucalyptus citriodora* Hook Growing in Crete, *Scientia Pharmaceutica*, 66, 93-105
146. Mejdoub, R.; Katsiotis, S.Th. (1998): Factors influencing the yield and the quality of the obtaining essential oil from the leaves of *Eucalyptus citriodora* hook, *Scientia Pharmaceutica*, 66, 93-105.
147. Meng, J.; Doyle, M.P. (1998): Emerging and evolving microbial foodborne pathogens, *Bulletin de l'Institut Pasteur*, 96 (3), 151-163, [https://doi.org/10.1016/S0020-2452\(98\)80010-9](https://doi.org/10.1016/S0020-2452(98)80010-9).
148. Meng, J.; LeJeune, J.T.; Zhao, T.; Doyle, M.P. (2012): Enterohemorrhagic *Escherichia coli*, In *Food Microbiology* (eds Doyle, M.P.; Buchanan, R.L.). <https://doi.org/10.1128/9781555818463.ch12>
149. ment, *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 6(3), 25–30.

-
150. Milenković, L.; Stanojević, J.; Cvetković, D.; Stanojević, L.; Lalević, D.; Šunić, L.; Fallik, E.; Ilić, Z.S. (2019): New technology in basil production with high essential oil yield and quality, *Industrial Crops and Products*, 140, 111718. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111718>
151. Miller, J.M.; Wright, J.W. (1982): Spot indole test: evaluation of four reagents, *Journal of Clinical Microbiology*, 15, 589-592.
152. Mimica-Dukić, N.; Orčić, D.; Lesjak, M.; Filip Šibul, F. (2016): Medicinal and Aromatic Crops: Production, Phytochemistry, and Utilization, 187-208. <https://doi.org/10.1021/bk-2016-1218.ch012>
153. Misra, N.N.; Jo, C.R. (2017): Applications of cold plasma technology for microbiological safety in meat industry, 64, 74-86. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.04.005>
154. Misra, N.N.; Yadav, B.; Roopesh, M.S.; Jo, C.R. (2018): Cold plasma for effective fungal and mycotoxin control in foods: Mechanisms, inactivation effects, and applications, *Comprehensive Reviews of Food Science and Food Safety*, 18, 106-120. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12398>
155. Mižáková, A.; Pipová, M.; Turek, P. (2002): The occurrence of moulds in fermented raw meat products, *Czech Journal of Food Sciences*, 20, 89-94. <https://doi.org/10.17221/3516-CJFS>
156. Mohammad, S.M. (2011): A study on sage (*Salvia officinalis*), *Journal of Applied Sciences Research*, 7 (8), 1261–1262.
157. Momtaz, H.; Rahimian, M.D.; Dehkordi, F.S. (2013): Identification and characterization of *Yersinia enterocolitica* isolated from raw chicken meat based on molecular and biological techniques, *Journal of*

-
- Applied Poultry Research, 22(1), 137-145.
<https://doi.org/10.3382/japr.2012-00549>
158. Moreira, M.R.; Ponce, A.G.; del Valle, C.E.; Roura, S.I. (2005): Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen, *LWT – Food Science and Technology*, 38, 565-570.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.07.012>
159. Mor-Mur, M.; Yuste, J. (2010): Emerging Bacterial Pathogens in Meat and Poultry: An Overview. *Food Bioprocess Technology*, 3.
<https://doi.org/10.1007/s11947-009-0189-8>
160. Morshdy, A.E.M.A.; El-tahlawy, A.S.; Qari, S.H.; Qumsani, A.T.; Bay, D.H.; Sami, R.; Althubaiti, E.H.; Mansour, A.M.A.; Aljahani, A.H.; Hafez, A.E-S.E.; Mahmoud, A.F.A.; Bayomi, R.M.E.; Hussein, M.A. (2022): Anti-Biofilms' Activity of Garlic and Thyme Essential Oils against *Salmonella typhimurium*, *Molecules*, 27(7), 2182. <https://doi.org/10.3390/molecules27072182>
161. Moschonas, G.; Geornaras, I.; Stopforth, J.D.; Wach, D.; Woerner, D.R.; Belk, K.E.; Smith, G.C.; Sofos, J.N. (2012): Activity of caprylic acid, carvacrol, ϵ -polylysine and their combinations against salmonella in not-ready-to-eat surface-browned, frozen, breaded chicken products, *Journal of Food Science*, 77(7), 405–411.
162. Namsa, N.D.; Tag, H.; Mandal, M.; Kalita, P.; Das, A.K. (2009): An Ethnobotanical Study of Traditional Anti-Inflammatory Plants Used by the Lohit Community of Arunachal Pradesh, India, *Journal of Ethnopharmacology*, 125, 234-245.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2009.07.004>

-
163. Nazzaro, F.; Fratianni, F.; De Martino, L.; Coppola, R.; De Feo, V. (2013): Effect of essential oils on pathogenic bacteria, *Pharmaceuticals*, 6, 1451-1474. <https://doi.org/10.3390/ph6121451>
164. Nguiefack, J.; Dongmo, J.B.; Dakole, C.D.; Leth, V.; Vismer, H.F.; Torp, J. (2009): Food preservative potential of essential oils and fractions from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* against mycotoxigenic fungi, *International Journal of Food Microbiology*, 131, 151–156.
165. Nguiefack, J.; Leth, V.; Zollo, P.H.A.; Mathur, S.B. (2004): Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Cameroon for controlling food spoilage and mycotoxin producing fungi, *International Journal of Food Microbiology*, 94, 329–334.
166. Ninios, T.; Lundén, J.; Korkeala, H.; Fredriksson-Ahomaa, M. *Meat Inspection and Control in the Slaughterhouse*; John Wiley & Sons: Oxford, UK, 2014.
167. Nostro, A.; Blanco, A.R.; Canatelli, M.A.; Enea, V.; Flamini, G.; Morelli, I.; Roccaro, A.S.; Alonzo, V. (2004) Susceptibility of methicillin, resistant staphylococci to oregano essential oils, carvacrol and thymol, *FEMS Microbiology Letters*, 230, 191–195.
168. Nowell, V.J.; Poppe, C.; Parreira, V.R.; Jiang, Y.F.; Reid-Smith, R.; Prescott, J.F. (2010): *Clostridium perfringens* in retail chicken, *Anaerobe*, 16(3), 314-315. <https://doi.org/10.1016/j.aerobe.2009.11.004>.
169. Nowicka, B.; Kruk, J. (2010): Occurrence, biosynthesis and function of isoprenoid quinones, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*, 1797, 1587-1605. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2010.06.007>.

-
170. Odeyemi, O.A.; Alegbeleye, O.O.; Strateva, M.; Stratev, D. (2020): Understanding spoilage microbial community and spoilage mechanisms in food of animal origin, *Comprehensive reviews in Food Science and Food Safety*, 19, 311-331. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12526>
171. Odonkor, S.T., Ampofo, J.K. (2013): *Escherichia coli* as An Indicator of Bacteriological Quality of Water: An Overview, *Microbiology Research*, 4(1), e2. <https://doi.org/10.4081/mr.2013.e2>
172. Omar, S.S.; Al-Delaimy, K.S.; Abdullah, Z.A. (2006): The inhibitory effect of Jordanian selected plant extracts on growth and enterotoxin production by *Clostridium perfringens*, *Advances in Food Sciences*, 28(1).
173. Ono, K.; Yamamoto, K. (1999): Contamination of meat with *Campylobacter jejuni* in Saitama, Japan, *International Journal of Food Microbiology*, 47 (3), 211-219. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(99\)00015-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(99)00015-X).
174. Ortega Morente, E.; Abriouel, H.; López, R.L.; Ben Omar, N.; Gálvez, A. (2010): Antibacterial activity of carvacrol and 2-nitro-1-propanol against single and mixed populations of foodborne pathogenic bacteria in corn flour dough, *Food Microbiology*, 27(2), 274–279.
175. Ouahada, S. (2000): Tunisian rosemary oil, *Perfumer & Flavorist*, 25(6), 24–5.
176. Oussalah, M.; Caillet, S.; Salmiéri, S.; Lacroix, M. (2004): Antimicrobial and Antioxidant Effects of Milk Protein-Based Film Containing Essential Oils for the Preservation of Whole Beef Muscle, *Journal of agricultural and food chemistry*, 52, 5598-605. <https://doi.org/10.1021/jf049389q>.

-
177. Oyedeji, A.O.; Msagati, T.A.M.; Williams, A.B.; Benson, N.U. (2021): Detection and quantification of multiclass antibiotic residues in poultry products using solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with diode array detection, *Heliyon*, 7, 12. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08469>
178. Özcan, M.; Chalchat, J-C. (2002): Essential oil composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum minimum* L. in Turkey, *Czech Journal of Food Science*, 20, 223–228.
179. Özkan, O. E.; Güney, K.; Gür, M.; Pattabanoglu, E.S.; Babat, E.; Khalifa, M.M. (2017): Essential Oil of Oregano and Savory; Chemical Composition and Antimicrobial Activity, *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 51(3).
180. Paniagua-Zambrana, N.Y., Bussmann, R.W., Romero, C. (2020): *Origanum majorana* L. *Origanum vulgare* L. Lamiaceae, In: *Ethnobotany of the Andes. Ethnobotany of Mountain Regions* (szerk: Paniagua-Zambrana, N., Bussmann, R.), Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-28933-1_213
181. Pennington, H. (2010): *Escherichia coli* O157, *The Lancet*, 376, 1428-1435. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60963-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60963-4)
182. Perdana, M.I., Ruamcharoen, J., Panphon, S., Leelakriangsak, M. (2021): Antimicrobial activity and physical properties of starch/chitosan film incorporated with lemongrass essential oil and its application, *LWT*, 141, 110934. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.110934>
183. Perito, M.A.; Chiodo, E.; Serio, A.; Paparella, A.; Fantini, A. (2020): Factors influencing consumers' attitude towards biopreservatives, *Sustainability*, 12, 38. <https://doi.org/10.3390/su122410338>

-
184. Pesavento, G.; Calonico, C.; Bilia, A.R.; Barnabei, M.; Calesini, F.; Addona, R.; Mencarelli, L.; Carmagnini, L.; Di Martino, M.C.; Lo Nostro, A. (2015): Antibacterial activity of Oregano, Rosmarinus and Thymus essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in beef meatballs, *Food Control*, 54, 188-199. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.01.045>
185. Petrová, J.; Pavelková, A.; Hleba, L.; Pochop, J.; Rovná, K.; Kačáni-ová, M. (2013): Antimicrobial Effect of *Salvia officinalis* L. against Selected Group of Bacteria Isolated from Chickens Meat, *Animal Science & Biotechnologies*, 46(2), 123.
186. Piper, J.D.; Piper, P.W. (2017): Benzoate and sorbate salts: A systematic review of the potential hazards of these invaluable preservatives and the expanding spectrum of clinical uses for sodium benzoate, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16, 868-880. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12284>
187. Pirhonen, T.I.; Andersson, M.A.; Jääskeläinen, E.L.; Salkinoja-Salonen, M.S.; Honkanen-Buzalski, T.; Johansson, T.M.-L. (2005): Biochemical and toxic diversity of *Bacillus cereus* in a pasta and meat dish associated with a food-poisoning case, *Food Microbiology*, 22(1), 87-91. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2004.04.002>.
188. Plouzek C.A.; Ciolino H.P.; Clarke R.; Yeh G.C. (1999): Inhibition of P-glycoprotein activity and reversal of multidrug resistance in vitro by rosemary extract, *European Journal of Cancer*, 35, 1541–1545.
189. Pokorny J.; Reblova Z.; Trojakova L.; Korczak J.; Janitz W. (1998): Antioxidant activities of herbs and spices, In: *Proceedings of World Conference on Oilseed and Edible Oils Processing*, Istanbul (szerk.

-
- Koseoglu S.S.; Rhee K.C.; Wilson R.F.), vol. II: Advances in Oils and Fats, Antioxidants, and Oilseed By-Products, AOCS Press, Champaign, 265.
190. Porte, A.; Godoy, R.; Lopes, D.; Koketsu, M.; Gonçalves, S.; Torquillo, Helena. (2000): Essential Oil of *Rosmarinus officinalis* L. (Rosemary) from Rio de Janeiro, *Brazil Journal of Essential Oil Research*, 12, 577-580. <https://doi.org/10.1080/10412905.2000.9712163>.
191. Posgay, M.; Kapcsándi, V.; Lakatos, E. (2021): Antimicrobial effect of dried sage on the microbiological state of fresh Hungarian sausage, *Acta Agraria Debreceniensis*, 189-192. <https://doi.org/10.34101/ACTAAGRAR/1/8708>.
192. Quesada, J.; Sendra, E.; Navarro, C.; Sayas-Barberá, E. (2016): Antimicrobial active packaging including chitosan films with *Thymus vulgaris* L. essential oil for ready-to-eat meat, *Foods*, 5, 57. <https://doi.org/10.3390/foods5030057>
193. Radaelli, M., da Silva, B.P., Weidlich, L., Hoehne, L., Flach, A., da Costa, L.A.M.A., Ethur, E.M. (2016): Antimicrobial activities of six essential oils commonly used as condiments in Brazil against *Clostridium perfringens*, *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(2), 424–430. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2015.10.001>
194. Rahnema, H.; Azari, R.; Yousefi, M.H.; Berizi, E.; Mazloomi, S.M.; Hosseinzadeh, S.; Derakhshan, Z.; Ferrante, M.; Conti, G.O. (2023): A systematic review and meta-analysis of the prevalence of *Bacillus cereus* in foods, *Food Control*, Volume 143, 109250. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109250>.

-
195. Rakasa Rao, E.V.S.; Gopinath, C.T; Ganesha Rao, R.S.; Ramesh, S. (1999): Agronomic and Distillation studies on rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) in a semi-arid tropical environ-
 196. Rasmy, M.N.; Hassan, A.A.; Foda, I.M.; El-Moghazy, M.M. (2012): Assessment of the antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* L.) extracts on the shelf life of mayonnaise, *World Journal of Dairy Food Sciences*, 7 (1), 28–40.
 197. Ravishankar, S.; Jaroni, D.; Zhu, L.; Olsen, C.; McHugh, T.; Friedman, M. (2012): Inactivation of *Listeria monocytogenes* on ham and bologna using pectinbased apple, carrot, and hibiscus edible films containing carvacrol and cinnamaldehyde, *Journal of Food Science*, 77 (7), M377–M382.
 198. Ren, B.J.; Wu, W.; Soladoye, O.P.; Bak, K.H.; Fu, Y.; Zhang, Y.H. (2021): Application of biopreservatives in meat preservation: A review, *International Journal of Food Science & Technology*, 56, 6124-6141. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15307>
 199. Riha Jr., W.E.; Solberg, M. (1975): *Clostridium perfringens* growth in a nitrate containing defined medium sterilized by heat or filtration, *Journal of Food Science*, 40(3), 443-445.
 200. Rivera, D.; Toledo, V.; Reyes-Jara, A.; Navarrete, P.; Tamplin, M.; Kimura, B.; Wiedmann, M.; Silva, P.; Switt, A.I.M. (2018): Approaches to empower the implementation of new tools to detect and prevent foodborne pathogens in food processing, *Food Microbiology*, 75, 126-132. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.07.009>
 201. Roobab, U.; Khan, A.W.; Loren, J.M.; Arshad, R.N.; Chen, B.R.; Zeng, X.A.; Bekhit, A.E.D.; Suleman, R.; Aadil, R.M. (2021): A systematic review of clean-label alternatives to synthetic additives

-
- in raw and processed meat with a special emphasis on high-pressure processing (2018–2021), *Food Research International*, 150, 110792. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110792>
202. Sadeh, D.; Nitzan, N.; Chaimovitch, D.; Shachter, A.; Ghanim, M.; Dudai, N. (2019): Interactive effects of genotype, seasonality and extraction method on chemical compositions and yield of essential oil from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), *Industrial Crops and Products*, 138. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.05.068>
203. Saggiorato, A.G.; Gaio, I.; Treichel, H.; de Oliveira, D.; Cichoski, A.J.; Cansian, R.L. (2009): Antifungal Activity of Basil Essential Oil (*Ocimum basilicum* L.): Evaluation In Vitro and on an Italian-type Sausage Surface, *Food and Bioprocess Technology*, 5, 378–384. <https://doi.org/10.1007/s11947-009-0310-z>
204. Sahin, O.; Zhang, Q.; Meitzler, J.C.; Harr, B.S.; Morishita, T.Y.; Mohan, R. (2001): Prevalence, antigenic specificity and bactericidal activity of poultry anti-Campylobacter maternal antibodies, 67 (9), 3951-3957. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.9.3951-3957.2001>
205. Satish Kumar, K. (2019): Smoke-drying technology for fish preservation, ITEC training programme on „Protocol for the Production of High Value Secondary Products from Industrial Fish and Shellfish Processing, 153-162.
206. Saulo, A.A. (2007): *Clostridium botulinum* in Foods, *Food Safety and Technology*, FST-28, 4.
207. Schlegelova, J.; Napravnikova, E.; Dendis, M.; Horvath, R.; Bened, I.K.; Babak, V.; Imova, E.; Navratilova, P.; Sustackova, A. (2004): Beef carcass contamination in a slaughterhouse and prevalence of

-
- resistance to antimicrobial drugs in isolates of selected microbial species, *Meat Science*, 66(3), 557–565
208. Sensoy, N.D. (2007): Obtaining of Natural Antioxidant from Sage Leaves (*Salvia officinalis*) with Supercritical Carbon Dioxide Extraction, Gazi University, Institute of Science and Technology, Ankara, 108. (MSc. dolgozat)
209. Seo, S.; Jang, S.; Almanza, B.; Miao, L.; Behnke, C. (2014): The negative spillover effect of food crises on restaurant firms. Did Jack in the Box really recover from an E. coli scare? *International Journal of Hospitality Management*, 39, 107-121. <https://doi.org/10.1016/j.ijhm.2014.02.011>
210. Sepahvand, S.; Amiri, S.; Radi, M.; Akhavan, H.R. (2021): Antimicrobial activity of thymol and thymol-nanoemulsion against three food-borne pathogens inoculated in a sausage model, *Food and Bioprocess Technology*, 14, 1936-1945. <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02689-w>
211. Shaaban, H.A.E.; El-Ghorab, A.H.; Shibamoto, T. (2012): Bioactivity of essential oils and their volatile aroma components: Review, *Journal of Essential Oil Research*, 24, 203-212. <https://doi.org/10.1080/10412905.2012.659528>
212. Sheeladevi, A.; Ramanathan, N. (2012): Antibacterial Activity of Plant Essential Oils against Food Borne Bacteria, *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*, 3 (5), 1106- 1109.
213. Shirazi, M.H.; Ranjbar, R.; Eshraghi, S.; Amin, G.; Nouri, M.S.; Bazzaz, N. (2008): Inhibitory effects of Sage extract on the growth of enteric bacteria, *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11(3):487-9. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2008.487.489>.

-
214. Sikkema, J.; De Bont, J.A.; Poolman, B. (1995): Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons, *Microbiology Review*, 59, 201-215.
215. Singh, D.; Chaudhuri, P.K. (2018): A review on phytochemical and pharmacological properties of Holy basil (*Ocimum sanctum* L.) *Industrial Crops and Products*, 118, 367-382.
216. Smith-Palmer, A.; Stewart, J.; Fyfe, L. (2001) The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese, *Food Microbiology* 18, 463–470.
217. Smyth, C.J.; Smyth D.S.; Kennedy J.; Twohig, J.; Bolton, D.J.; Mansell, B.; Sheridan, J.; Bolton, D.J. (2004): *Staphylococcus aureus*: from man or animal—an enterotoxin iceberg?, EU-RAIN, Padua, Italy Teagasc—The National Food Centre
218. Šojić, B.; Ikonić, P.; Pavlič, B.; Zeković Z.; Tomović, V.; Kocić-Tanackov, S.; Džinić, N.; Škaljac, S.; Ivić, M.; Jokanović, M.; Tasić, T. (2017): The effect of essential oil from sage (*Salvia officinalis* L.) herbal dust (food industry by-product) on the microbiological stability of fresh pork sausages, *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 85.
219. Šojić, B.; Tomović, V.; Savanović, J.; Kocić-Tanackov, S.; Pavlič, B.; Jokanović, M.; Milidrag, A.; Martinović, A.; Vujadinović, D.; Vukić, M. (2021): Sage (*Salvia officinalis* L.) Essential Oil as a Potential Replacement for Sodium Nitrite in Dry Fermented Sausages, *Processes*, 9, 424. <https://doi.org/10.3390/pr9030424>
220. Soković, M.; van Griensven, L.J. (2006): Antimicrobial activity of essential oils and their components against the three major pathogens of the cultivated button mushroom, *Agaricus bisporus*, *European*

-
- Journal of Plant Pathology, 116, 211–224.
<https://doi.org/10.1007/s10658-006-9053-0>
221. Sřrensen, A.-D.M.; Nielsen, N.S.; Jacobsen, C. (2010): Oxidative stability of fish oil-enriched mayonnaise-based salads, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112 (4), 476–487.
222. Stahl-Biskup, E.; Venskutonis, R.P. (2012): 27 - Thyme, in *Food Science, Technology and Nutrition, Handbook of Herbs and Spices (Second Edition)* (szerk.: Peter, K.V.), Woodhead Publishing, 499-525. <https://doi.org/10.1533/9780857095671.499>.
223. Stanojevic, L.P.; Marjanovic-Balaban, Z.P.; Kalaba, V.D.; Stanojevic, J.S.; Cvetkovic, D.J.; Cakic, M.D. (2017): Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Basil (*Ocimum basilicum* L.) Essential Oil, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20(6), 1557-1569.
<https://doi.org/10.1080/0972060X.2017.1401963>
224. Sun, C.; Wu, H. (2013): Assessment of pollution from livestock and poultry breeding in China, *International Journal of Environmental Studies*, 70:2, 232- 240.
<https://doi.org/10.1080/00207233.2013.773716>
225. Szczepaniak, S.; Polanska, M.; Van Assche, A.; Moloney, R.; Willems, K.A. (2011): The synergism of natural compounds in the pursuit of safe and healthier food, *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 38, 215–220.
226. Taie, H.A.A.; Salama, Z.A.-E.; Radwan, S. (2010): Potential Activity of Basil Plants as a Source of Antioxidants and Anticancer Agents as Affected by Organic and Bio-organic Fertilization, *Notulae Botanicae HortiAgrobotanici Cluj-Napoca*, 38(1), 119–127.

-
227. Tajkarimi, M.M.; Ibrahim, S.A.; Cliver, D.O. (2010): Antimicrobial herb and spice compounds in food, *Food Control*, 21, 1199-1218. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.02.003>
228. Taormina, P.J.; Dorsa, W.J. (2004): Growth Potential of *Clostridium perfringens* during Cooling of Cooked Meats, *Journal of Food Protection*, 67(7), 1537-1547. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.7.1537>.
229. Taormina, P.J.; Sofos, J.N. (2014): Low-Water Activity Meat Products, *The Microbiological Safety of Low Water Activity Foods and Spices*, 127–164. doi:10.1007/978-1-4939-2062-4_9
230. Teofilovic, B.; Grujic-Letic, N.; Golocorbin, Kon, S.; Stojanovic, S.; Vastag, G.; Gadzuric, S. (2017): Experimental and Chemometric Study of Antioxidant Capacity of Basil (*Ocimum Basilicum*) Extracts, *Industrial Crops Production*, 100, 176–182. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.02.039>.
231. Tewari, A.; Singh, S.P.; Singh, R. (2013): Incidence and enterotoxigenic profile of *Bacillus cereus* in meat and meat products of Uttarakhand, India, *Journal of Food Science and Technology*, 52, 1796–1801 <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1162-0>
232. Tiemersma, E.W.; Bronzwaer, S.L.; Lyytikäinen, O.; Degener, J.E.; Schrijnemakers, P.; Bruinsma, N.; Grundmann, H. (2004): Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe, 1999–2002, *Emerging Infectious Diseases*, 10(9), 1627-1634. <https://doi.org/10.3201/eid1009.040069>.
233. Tornuk, F.; Hancer, M.; Sagdic, O.; Yetim, H. (2015): LLDPE based food packaging incorporated with nanoclays grafted with bioactive compounds to extend shelf life of some meat products, *LWT-Food*

-
- Science and Technology, 64, 540-546.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.06.030>
234. Traffano-Schiffo, M.V.; Castro-Giráldez, M.; Fito, P.J.; Balaguer, N. (2014): Thermodynamic model of meat drying by infrared thermography, *Journal of Food Engineering*, 128, 103-110.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.12.024>.
235. ur Rahman, U.; Sahar, A.; Ishaq, A.; Aadil, R.M.; Zahoor, T.; Ahmad, M.H. (2018): Advanced meat preservation methods: A mini review, *Journal of Food Safety*, 38, e12467.
<https://doi.org/10.1111/jfs.12467>
236. Valenzuela A.; Nieto S. (1996): Synthetic and natural antioxidants: food quality protectors. *Grasas aceites, Grasas y Aceites* 47(3), 186-9.
237. van Bredam S.G.; Mathijs, K.; Pieters, H.J.; Sagi-Kiss, V.; Kuhnle, G.G.; Georgiadis, P.; Saccani, G.; Parolari, G.; Virgili, R.; Sinha, R.; Hemke, G.; Hung, Y.; Verbeke, W.; Masclee, A.A.; Vleugels-Simon, C.B.; van Bodegraven, A.A.; de Kok, T.M. (2021): Replacement of nitrite in meat products by natural bioactive compounds results in reduced exposure to n-nitroso compounds: The PHY-TOME project, *Molecular Nutrition & Food Research*, 65.
<https://doi.org/10.1002/mnfr.202001214>
238. Wadhwa, G., Kumar, S., Chhabra, L., Mahant, S., Rao, R. (2017): Essential oil–cyclodextrin complexes: An updated review, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 89, 39-58.
<https://doi.org/10.1007/s10847-017-0744-2>
239. Wafy, H.A.; El-Bagory, A-R.; Shawish, R. (2019): Antimicrobial activity of garlic and thyme essential oils against coliform bacteria

-
- in poultry meat, *Journal of Current Veterinary Research*.
<https://doi.org/10.21608/jcivr.2019.56998>
240. Wang, L.; Liu, T.; Liu, L.; Liu, Y.F.; Wu, X.X. (2022): Impacts of chitosan nanoemulsions with thymol or thyme essential oil on volatile compounds and microbial diversity of refrigerated pork meat, *Meat Science*, 185, 108706. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108706>
241. Wang, L.C.; Wei, W.H.; Zhang, X.W.; Liu, D.; Zeng, K.W.; Tu P.F. (2018): An integrated proteomics and bioinformatics approach reveals the anti-inflammatory mechanism of carnosic acid, *Frontiers in Pharmacology*, 9, 370.
242. WHO (2020): World Health Organization Fact sheet
243. Williams, P. (2007): Nutritional composition of red meat, *Nutrition & Dietetics*, 64, 113-119. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0080.2007.00197.x>
244. Witwit, N.M. (2018): Potential effectiveness of essential oil as natural food preservatives compared with chemical, *Journal of Global Pharma Technology*, 10 (3), 462-470
245. Wu, J.W.; Lee, M.-H.; Ho, C.-T.; Chan, S.S. (1982): Elucidation of the chemical structures of natural antioxidants isolated from rosemary, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 59, 339–345.
246. Yanishlieva, N.V.; Marinova, E.M. (2001): Stabilisation of edible oils with natural antioxidants. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 103, 752-767. [https://doi.org/10.1002/1438-9312\(200111\)103:11<752::AID-EJLT752>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/1438-9312(200111)103:11<752::AID-EJLT752>3.0.CO;2-0)

-
247. Yazgan, H. (2020): Investigation of antimicrobial properties of sage essential oil and its nanoemulsion as antimicrobial agent, *LWT*, 109669. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109669>
248. Yu, H.H.; Chin, Y.W.; Paik, H.D. (2021): Application of natural preservatives for meat and meat products against food-borne pathogens and spoilage bacteria: A review, *Foods*, 10, 2418. <https://doi.org/10.3390/foods10102418>
249. Żegarska, Z.; Amarowicz, R.; Karamać, M.; Rafałowski, R. (1996): Antioxidative effect of rosemary ethanolic extract on butter, *Milchwissenschaft*, 51, 195–198.
250. Zehra Karagöz Emiroğlu, Gökçe Polat Yemiş, Betül Kodal Coşkun, Kezban Candoğan (2010): Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oils on fresh ground beef patties, *Meat Science*, 86(2), 283-288. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.04.016>.
251. Zhou, G.H.; Xu, X.L.; Liu, Y. (2010): Preservation technologies for fresh meat – A review, *Meat Science*, 86, 119-128. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.04.033>
252. Zhu, M.; Du, M.; Cordray, J.; Ahn, D.U. (2006): Control of *Listeria monocytogenes* contamination in ready-to-eat meat products, 4(2), 34-42. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2005.tb00071.x>
253. Zigerlig, C. (2008): The influence of water activity (aw) in meat products, Novasina AG.

Szabványok, rendeletek:

1. MSZ EN ISO 4833-1:2014: Összes mikrobaszám meghatározása élelmiszerből
2. MSZ ISO 7954:1999: Összes élesztő és penészgomba szám meghatározása élelmiszerből
3. ISO 16649-2:2005: Összes *E. coli* meghatározása élelmiszerből
4. ISO 4832:2006: Összes kóliform meghatározása élelmiszerből
5. MSZ EN ISO 7937:2005: Összes *Clostridium perfringens* szám meghatározása élelmiszerből
6. MSZ EN ISO 6579:2017: Összes szalmonella faj meghatározása élelmiszerből
7. MSZ EN ISO 6888-1:2021: Összes koaguláz-pozitív *Staphylococcus* szám meghatározása élelmiszerből
8. 4/1998. (XI. 11.) EüM rendelet az élelmiszerekben előforduló mikrobiológiai szennyeződések megengedhető mértékéről
9. CLSI (2012): Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement. CLSI Document M 100-S22. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne.

Internetes hivatkozás:

1. URL¹: <https://saccobrasil.com.br/culturas-para-carne/>

9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretném köszönetemet kifejezni témavezetőimnek, Hanczné Dr. Lakatos Erikának és Dr. Kapcsándi Viktóriának, hogy jótanácsaikkal, iránymutatásukkal segítettek kutatómunkám és disszertációm elkészítése során.

Továbbá köszönetemet fejezem ki Oppenenseimnek, Mohácsiné Prof. Dr. Farkas Csilla egyetemi tanárnak, Dr. Zsarnóczay Gabriella egyetemi docensnek és Dr. Sík Beatrix egyetemi adjunktusnak, akik javításikkal, véleményükkel, észrevételeikkel segítették dolgozatom színvonalát emelni.

Köszönet illeti meg a Széchenyi István Egyetem Albert Kázmér Mosonmagyaróvári Kar Élelmiszertudományi Tanszék munkatársait, segítségükért, melyet vizsgálataim során nyújtottak.

Végül szeretném megköszönni szüleimnek, családomnak, hogy a tanulmányaim során végig töretlenül támogattak.

10.PULIKÁCIÓS JEGYZÉK

- Posgay, M.;** Greff, B.; Lakatos, E.; Kapcsándi, V. (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: 0,26)
- 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.;** 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)
- 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.
- Posgay, M.** (2021): Egyes gyógynövények kolbászfélék mikrobiológiai, és beltartalmi paramétereire gyakorolt hatása, Új Nemzeti Kiválóság Program 2020/2021 Konferencia Tanulmánykötet.

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.