



A kép illusztráció / The picture is illustration

Vajda Katalin¹, Szigeti Jenő², Ásványi Balázs², Szűcs Petra²

Érkezett/Received: 2014. december/December – Elfogadva/Accepted: 2015. április/April

Sous-vide húsokban előforduló humán patogén baktériumok hőrezisztenciájának vizsgálata

Kulcsszavak: Clostridium perfringens, Salmonella Enteritidis, hőkezelés, sous-vide, kéméletes technológia, csirkehús

1. Összefoglalás

A sous-vide technológia a kéméletes hőkezelési technológiák közé tartozik, amely során pasztörözött termékeket állítunk elő. A hőkezelés alacsony hőfoka (55–90 °C) miatt az így készült termékek magasabb tápértékkel és kedvezőbb érzékszervi tulajdonságokkal rendelkeznek a hagyományos technológiákhoz képest. A technológiával szemben támasztott alapvető követelmény az egyensúly megteremtése a mikrobiológiai biztonság és az organoleptikus tulajdonságok között. A mikrobiológiai minőség biztosítása azonban komoly kihívás elé állítja a technológiával foglalkozó szakembereket. A szerzők célja a sous-vide technológiával készült húsok mikrobiológiai minőségének javítása volt. A hús, a legdrágább és a leggyakrabban felhasznált sous-vide nyersanyag, ezért mikroflórájának vizsgálata kiemelt jelentőségű. A húsban előforduló patogén mikrobák közül a spórás Clostridium perfringens és az enterobaktériumokhoz tartozó Salmonella Enteritidis hőrezisztenciáját vizsgáltuk mesterségesen befertőzött csirkehúsban. Kísérleteink során különböző hőfokon és hőtartási idők mellett, légköri nyomáson és vákuum-csomagolásban, a baktériumokkal befertőzött felületileg sterilizett, darált csirkemellet hőkezeltünk. Meghatároztuk a hőkezelési paramétereket, a kezelési hőfokot és a kezelési időt, valamint a hőpusztulási paramétereket: a tizedelési időt (D), a z értéket, a relatív pusztulási sebességet (RPS) és a relatív pusztulási időt (RPI). Vizsgálataink eredménye alapján t-próbával ellenőriztük, hogy a hőkezelés csírapusztító hatásának mértékére milyen hatással van a csomagolás.

2. Bevezetés és irodalmi áttekintés

Az elmúlt évtizedekben jelentősen megváltoztak az emberek táplálkozási szokásai. A fogyasztók a frissebb, természetesebb, nem szezonális, „kényelmesebb”, „biztonságosabb” élelmiszereket részesítik előnyben. Az ilyen típusú termékek előállítására komoly kihívást jelent a termelők, a gyártók és a forgalmazók számára egyaránt. A megoldást a kéméletes élelmiszer-gyártó technológiák jelentik. A kéméletes szó azt jelenti, hogy „tartósítják az élelmiszert, mialatt annak tápértéke és érzékszervi tulajdonságai megmaradnak, csökkentve így a hőkezelés – mint fő tartósító eljárás – mellékhatásait” *Fellows* (2000) [1]. A jól sza-

bályozott, standardizált cook-chill rendszerek, köztük a molekuláris gasztronómia egyik technológiája, a sous-vide rendszer, az új technológiák (mild, novel technology) közé tartozik, amelyek kéméletesen feldolgozott (minimally processed) termékeket állítanak elő. A sous-vide „vákuum alatti” hőkezelési technológia egy olyan professzionális főzési módszer, amely oxigénmentes környezetben, pontos hőmérséklet-ellenőrzés mellett nem csak a főzést, hanem a tartósítás területét is magába foglalja. Pasztörözött termékeket állítanak elő, amelyek hűtőtárolás mellett később is felhasználhatók. Az eljárás során az élelmi anyagokat vákuumcsomagolják, majd rendkívül kéméletes hőkezelésnek vetik alá. A technológia lé-

¹ Nyugat-magyarországi Egyetem, Apáczai Csere János Kar, Turizmus Intézet, Győr

² Nyugat-magyarországi Egyetem, Mezőgazdasági és Élelmiszer-tudományi Kar, Élelmiszer-tudományi Intézet, Mosonmagyaróvár

¹ University of West Hungary, Apáczai Csere János Faculty

² University of West Hungary, Faculty of Agricultural and Food Sciences, Mosonmagyaróvár

nyege olyan hőkezelési paraméterek alkalmazása, amelyek figyelembe veszik a nyersanyag biokémiai tulajdonságait, elsősorban a fehérjék hődenaturációs pontjait. Így az eljárás megóvjá az élelmiszer mátrix szerkezetét, az illatanyagokat, az aromákat, valamint a tápanyagokat teljes mértékben megőrzi.

A hús a legdrágább és a leggyakrabban felhasznált sous-vide nyersanyag, ezért mikroflórájának vizsgálata kiemelt jelentőségű a sous-vide technológia mikrobiológiai minőségének javításakor. A hús szövetei az egészséges állatokban sterilek, az elsődleges feldolgozás során kontaminálódhatnak szaprofita és patogén mikroorganizmusokkal, amelyek a felületen megtelepednek és kolonizálódnak. A *Clostridium perfringens* a talajban, vízben, porban, fűszerekben, ember és állat bélcsatornájában található, az öt leggyakoribb ételmérgezést kiváltó baktériumok egyike. A nyers baromfihús 10-80 %-ában fordul elő [2] *Waldroup* (1996). Az ételmérgezés kialakulásához 10^9 - 10^7 sejt/g étel mennyiségben kell elszaporodnia kórokozónak [3] *McNamara* és *Lattuade* (1998). Ételmérgezést akkor okoz, ha a húst a hőkezelés után nem megfelelően tárolják. A 30 °C és az 50 °C közötti hőmérsékleti tartomány különösen kedvez a baktérium gyors szaporodásának. Az oxigénszint olyan mértékben redukálódik a vákuumcsomagolás alkalmazása során, ami kedvez az obligát anaerob klosztridiumok elszaporodásának [4] *Farkas et al.* (1978). Az Európai Unió 2009-ben elkészült összefoglalója alapján a szalmonellózis, a második leggyakoribb jelelt fertőzés forrása, 108614 emberi megbetegedést okozott. A szalmonella továbbra is az élelmiszer-eredetű járványok leggyakoribb kórokozója maradt, legtöbbször csirke-, pulyka- és sertéshúsban mutatatták ki a baktériumot [5] *EFSA Journal* (2011). Magyarországon a mikrobiológiai eredetű események kórokozó szerinti megoszlását vizsgálva megállapítható, hogy kóroki tényezőként a szalmonellák állnak az első helyen, ezen belül is a *Salmonella* Enteritidis abszolút túlsúlya jellemző. 2006-ban az összes bakteriális megbetegedések 93,0 %-át tették ki a szalmonellózisok, ezek 93,8 %-át a *Salmonella* Enteritidis okozta [6] *Élelmiszervizsgáló Közlemények* (2008). A 2014. december 15-21. közötti időszakban bejelentett fertőző megbetegedések alapján az ország járványügyi helyzete az alábbiakban foglalható össze: az enterális bakteriális fertőző betegségek közül az év eleje óta bejelentett szalmonellózis megbetegedések száma nem tért el lényegesen a 2008-2012. évek 1-51. hetét jellemző mediántól, és csak kismértékben haladta meg a 2013. év megfelelő értékét [7] *Epidemiológiai Információs Hetilap* (2015). A mikrobiológiai minőség biztosítása, a patogén és a szaprofita mikroorganizmusok szaporodásának megakadályozása folyamatos feladat a technológiával foglalkozó szakembereknek. A hagyományos pasztörözött élelmiszerek mikrobiológiai biztonságára vonatkozó hőkezelési előírások 65 °C-ban jelölik meg a hőmérsékleti minimum értéket. A sous-vide technológia az élelmiszerek szenzorikus tulajdonságait is figyelembe veszi, ezért egyes hús-

félék és a hal esetében 56 °C-os maghőmérséklet ajánl. Az alacsony pasztörözési hőfok és a hosszú tárolási idő miatt mikrobiológiai szempontból a termék sérülékeny. A sous-vide technológia alkalmazásának kritikus pontja ezért a hőkezelés méretezése. Kísérleteink célja az volt, hogy mindkét patogén esetében meghatározzuk a technológia alkalmazása során – csirkemell esetében – az optimális hőkezelési paramétereket, a hőpusztulási paramétereket és összehasonlítsuk hogy a csomagolási formák hogyan hatnak a baktériumok hőpusztulására.

3. Anyag és módszer

Vizsgálatainkat a Nyugat-magyarországi Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Karának Élelmiszertudományi Intézetében működő akkreditált (NAT-1-1674/2012) Élelmiszer és Vívizsgáló laboratóriumában végeztük. Kísérleteinkhez a *Clostridium perfringens* a NCAIM B 01417^T törzsét vákuumzárásos, dupla ampullás liofilezett preparátum formájában a Mezőgazdasági- és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteményéből, a *Salmonella* Enteritidis ATCC-13076 törzsének liofilizált tenyészetét tartalmazó dupla műanyag ampullát az American Type Culture Collection-ből szereztük be. A törzsek hőreisztecióját csirkemell modellt közegben vizsgáltuk, légköri nyomáson csomagolva és vákuumcsomagolásban. A hőkezeléseket 55–60–65 °C-on végeztük a húsfhérjék denaturációs hőmérsékleti tartományában.

A *Salmonella* Enteritidis XLD (Xilose-Lizin-Dezoxikolat) agaron előállított, 24 órán keresztül aerob körülmények között inkubált tiszta tenyészetéből 0,5 és 1,0 közötti McFarland egységre (10^8 CFU/ml) beállított szuszpenziót készítettünk. A csirkemell felületét a sous-vide technológiának megfelelően pár másodpercig serpenyőben átsütöttük, majd ledaráltuk. A darált csirkemell 10 g-jához 80 cm³ BPW-t és 10 cm³ szuszpenziót adagoltunk. Az így kapott keverékekből a mintavételi gyakoriságnak megfelelő számú mintát állítottunk elő, majd az egyik felét vákuum csomagoltuk. A mintavételek gyakorisága 55 °C-on 5 perc, 60 °C-on 5 perc, 65 °C-on 0,5 perc volt a légköri nyomáson és a vákuumban csomagolt minták esetében is.

A *Clostridium perfringens* RCM agaron előállított 48 órán át anaerob körülmények között inkubált tiszta tenyészetéből 0,5 és 1,0 közötti McFarland egységre (10^8 CFU/ml) beállított szuszpenziót készítettünk, amelynek 10 cm³-vel inokuláltuk mintáinkat. Az így kapott keverékekből a hőkezeléseknek megfelelő számú mintát állítottunk elő, majd az egyik felét vákuumban csomagoltuk. A hőkezeléseket sous-vide technológiához ajánlott cirkulációs, hőntartó berendezésben végeztük. A mintavétel gyakorisága hőfokfüggő volt, 55 °C-on 10 perc, 60 °C-on 5 perc, 65 °C-on 1 perc.

A hőkezelt mintákból elkészítettük a decimális hígítási sorokat 10^8 tagig, melyekből 1-1 cm³-nyi mennyiségeket steril Petri-csészébe pipettáztunk, majd

Heat resistance examination of human pathogenic bacteria in sous-vide meat

András S. Szabó

Katalin Vajda¹, Jenő Sziget², Balázs Ásványi²,
Petra Szűcs²

Keywords: *Clostridium perfringens*, *Salmonella* Enteritidis, heat treatment, sous-vide, mild technology

1. Abstract

The sous-vide technology belongs to mild heat treatment technologies in which pasteurized products are prepared. Due to the low temperature (55-90 °C) of the heat treatment, products have higher nutritional values and better organoleptic properties compared to conventional technologies. The basic requirement for this technology is to find the right balance between microbiological safety and organoleptic properties. However, ensuring high microbiological quality poses a serious challenge for professionals dealing with sous-vide technology. The goal of the authors was to improve the microbiological quality of meats made by sous-vide technology. Meat is the most expensive and the most commonly used raw material for sous-vide processes, therefore, testing its microflora is of high priority. The heat resistance of pathogenic bacteria of meat, such as spore-forming *Clostridium perfringens* and enterobacteria *Salmonella* Enteritidis was tested in artificially inoculated chicken meat. During our experiments, bacterially inoculated and surface sterilized minced chicken breast was heat treated at various temperatures and hold times, at atmospheric pressure and in vacuum-packaging as well. Effective heat treatment parameters (temperature and hold time) and heat destruction parameters such as decimal reduction time (D), z-value, relative thermal death rate (RTDR) and relative thermal death time (RTDT) were determined. Based on our results, it was investigated, using a t-test, how the magnitude of the germ reducing effect of the heat treatment was influenced by the packaging.

2. Introduction and literature review

Over the past decades, dietary habits of people have changed considerably. Consumers now prefer fresher, more natural, non-seasonal, „more comfortable”, „safer” foods. The production of these types of products presents a major challenge to producers, manufacturers and distributors alike. Mild food production technologies represent a solution to this problem. The word „mild” means that „the food is preserved, while its nutritional and organoleptic properties remain the same, thus reducing the side effects of heat treatment – the main preservation method” [1]. Well-regulated, standardized cook-chill systems, including one of the technologies of molecular gastronomy, the sous-vide system, are among new (mild and novel) technologies that produce minimally processed products. The sous-vide („under vacuum”) heat treatment technology is a professional cooking method that includes not only cooking, but also preservation in an oxygen-free environment, under accurate temperature control. It produces pasteurized products that can be used later if stored cold. During the procedure, foodstuffs are vacuum-packed, and then subjected to very mild heat treatment. The main point of the technology is to apply heat treatment parameters that take into consideration

the biochemical properties of the raw material, especially the thermal denaturation points of proteins. Thus, the structure of the food matrix is preserved, and fragrances, flavors and nutrients are fully retained.

Meat is the most expensive and most commonly used raw material for sous-vide processes, therefore, testing its microflora is of high priority when aiming to improve the microbiological quality of the sous-vide technology. Meat tissues are sterile in healthy animals, they can be contaminated during primary processing by saprophytic and pathogenic microorganisms, that can settle on and colonize surfaces. *Clostridium perfringens* can be found in soil, water, dust, spices and in the intestinal tracts of humans and animals, and it is one of the five bacteria that cause food poisoning most often. It is present in 10-80% of raw poultry meat [2]. To cause food poisoning, the pathogen has to reach a level of 10⁶-10⁷ cells/g food [3]. It causes food poisoning, if the food is stored inadequately after heat treatment. The temperature range between 30 °C and 50 °C is especially favorable for the rapid growth of the bacterium. Oxygen level is reduced to such an extent during the application of vacuum packaging, that it favors the proliferation of inevitable anaerobic clostridia [4]. According to the 2009 summary of the European Union, 108614 human incidents were caused by salmonellosis, the second most commonly reported infection. *Salmonella* remained the most common pathogen of food-related outbreaks, the bacterium was most often detected in chicken, turkey and pork [5]. In Hungary, when analyzing the distribution of events of microbiological origin by pathogen, it can be stated that salmonellae are in first place as pathogenic factors, with an absolute dominance of *Salmonella* Enteritidis. In 2006, salmonellosis accounted for 93.0% of the total bacterial diseases, and 93.8% of these were caused by *Salmonella* Enteritidis [6]. Based on the infectious diseases reported in the December 15-21, 2014 period, the epidemiological situation of the country can be summarized as follows: of enteric bacterial infectious diseases, the number of salmonella illnesses reported since the beginning of the year did not differ significantly from the median characterizing weeks 1-51 of years 2008-2012, and it exceeded the corresponding value of 2012 only slightly [7]. Ensuring microbiological quality and the prevention of the proliferation of pathogenic and saprophytic microorganisms are continuous tasks facing technology professionals. A minimum temperature value of 65 °C is prescribed by heat treatment regulations regarding the microbiological safety of foods pasteurized in the conventional way. Sensory properties of foods are also taken into consideration by the sous-vide technology, therefore, a core temperature of 56 °C is recommended for certain meats and fish. Because of the low pasteurization temperature and the long storage time the product is microbiologically sensitive. Therefore, the critical point of applying the sous-vide technology is the sizing of the heat treatment. The goal of our experiments was to determine optimal heat treatment parameters and thermal death parameters for both pathogens when using the technology, in the case of chicken breast, and determine how thermal deaths of the bacteria are affected by the mode of packaging.

3. Materials and methods

Our investigations were performed in the accredited Food and Water Testing Laboratory (NAT-1-1674/2012) operating at the Institute of Food Sciences of the Faculty of Agricultural and Food Sciences of the University of West

TSA (Trypton-Soya-Agar) táptalajjal agar lemezeket öntöttünk, amelyeket szilárdulás után *Clostridium perfringens* esetében 37 °C-on 72 óráig anaerob körülmények között, *Salmonella* Enteritidis esetében pedig 37 °C-on 24 óráig inkubáltuk. Minden hígítás esetében 2 párhuzamos leoltást végeztünk. Vizsgálatainkat 3 független kísérletben ismételtük meg. Az értékelésbe azokat a hígítási szinteket vontuk be, amelyek lemezein a kifejlődött telepek száma 10 és 300 közé esett. A hőkezelést túlélő sejtek számát az értékelhető lemezekon megszámlált telepszámok súlyozott átlagaként adtuk meg a hígítási fok figyelembe vételével, meghatározott képlet alapján.

Kísérleteink során meghatároztuk a hőpusztulási paramétereket:

- **Tizedelési idő:** „t” időtartam alatt a túlélő sejtek száma tizedére csökkenését tizedelési időnek nevezzük. Jele: D. A tizedelési idő a mikroba-populáció rezisztenciájának mértéke. A D érték csak akkor egyértelmű, ha megadjuk a behatásnak a mértékét is, amelyikre vonatkozik, pl. D_{65} a 65 °C-hoz tartozó tizedelési időt jelöli.
- **A z érték:** A tizedre csökkenési idő hőmérséklet függését a z értékkel jellemezzük, amely azt mutatja meg, hogy hány Celsius-fokkal kell megemelni a hőmérsékletet ahhoz, hogy a tizedelési idő 1 log nagyságrenddel, az a tizedére csökkenjen.
- **A hőmérsékleti együttható (Q_{10})** azt jelenti, hogy a hőmérséklet 10 °C-kal való emelése hányszorosára növeli a törzspusztulási sebességét.
- **A relatív pusztulási sebesség (RPS):** a mikroba-pusztítás sebessége, azt mutatja meg, hogy hányad része a 70 °C-on mérhetőnek.
- **A relatív pusztulási idő (RPI):** a relatív pusztulási sebesség reciprokaként fejezhető ki.
- Az eredmények statisztikai értékelése során F-próbát és t-próbát alkalmaztunk, annak megállapítására, hogy van-e összefüggés a csomagolás módja és a csirapusztító hatás mértéke között.

4. Eredmények

A *Salmonella* Enteritidis ATCC-13076 törzs léghő és a vákuum csomagolt mintáinak élősejt szám tízes alapú logaritmusának ($\lg N$ CFU/cm³) változását az idő függvényében ábrázolva a túlélési görbét kapjuk, amelynek iránytangenséből a tizedelési idő számítható. A *Salmonella* Enteritidis ATCC-13076 törzs mintáinak 55 °C-, 60 °C- és 65 °C-on történő hőkezelés során kapott adatok alapján ábrázolt túlélési görbéket a **1-3. ábrák** szemléltetik.

A tizedelési idők logaritmusait a kezelési hőmérsék-

letek függvényében ábrázolva a hőrezisztencia görbéhez jutunk, amelyet a **4-5. ábra** mutat be. A görbe meredeksége jelzi a mikroorganizmus rezisztenciájának változását a pusztító hőhatás erősségének függvényében, iránytangenséből a „z”-érték meghatározható.

A **4-5. ábra** alapján meghatároztuk a hőpusztulási paramétereket, a „z”-értéket, a Q_{10} a hőpusztulási együttható értékét, a relatív pusztulási sebességet (RPS) és a relatív pusztulási időt (RPI). A paramétereket a **1-2. táblázatokban** foglaltuk össze.

A szakirodalomban található tizedelési idők: *Juneja* és munkatársai 2001-ben darált csirkehúsban $D_{58}=7,08$ percet, $D_{60}=5,2$ percet, $D_{65}=0,59$ percet, 2012-ben darált csirkehúsban $D_{60}=3,94$ percet, $D_{65}=0,941$ percet mértek. *Juneja* és munkatársai által 2001-ben 58-65 °C között csirkehúsban mért z érték 8,83 °C volt [8].

A *Clostridium perfringens* NCAIM B01417^T számú törzs mintáinak hőkezelés hatására bekövetkező vegetatív sejtszám változását a túlélési görbéről olvashatjuk le, amelyet a **6-8. ábra** szemléltet.

A túlélési görbék meredeksége alapján meghatározott tizedelési idők logaritmusait a hőfokok függvényében ábrázolva a hőrezisztencia és a többségi pusztulási görbéket ábrázoltuk a **9-10. ábrán**.

A **9-10. ábra** alapján meghatároztuk a hőpusztulási paramétereit, a „z”-értéket, a Q_{10} a hőpusztulási együttható értékét, a relatív pusztulási sebességet (RPS) és a relatív pusztulási időt (RPI). A paramétereket a **3-4. táblázatokban** foglaltuk össze.

Szakirodalmi adatok: 2006-ban *Byrne* és munkatársai disznóhúsban $D_{55}=16,3$ percet, $D_{60}=8,5$ percet, $D_{65}=0,8$ percet mértek [9], *Juneja* és *Marmar* (1996) pulyka hússal végzett kísérleteik eredményeként $D_{55}=17,5$ percet publikáltak [10]. *Byrne* és munkatársai 2006-ban 55 °C és 60 °C között 7,7 °C z értéket számítottak kísérleteik eredményeként.

5. Következtetések

Kísérleteink eredményei alapján következő megállapításokat tehetjük:

1. A túlélési görbék azt mutatják, hogy a *Salmonella* Enteritidis ATCC-13076 törzs és a *Clostridium perfringens* NCAIM B 01417^T törzs vákuumcsomagolt mintáinak 55 °C-on, 60 °C-on és 65 °C-on végzett hőkezelése során a hőkezelés 0. percében vett mintából általában két nagyságrenddel kisebb élő sejtszámot mutattunk ki a léghő mintákhoz képest. Ennek a hő hatására bekövetkező sejtpusztulás mellett, az az oka, hogy a nyomásváltozást kevésbé toleráló sejtek elhalása ebben a szakaszban fokozottabb.

Hungary. For our experiments, strain NCAIM B 01417^T of *Clostridium perfringens* was obtained in the form of a vacuum-sealed, double ampoule, lyophilized preparation from the National Collection of Agricultural and Industrial Microorganisms, while the double plastic ampoule containing the lyophilized culture of strain ATCC-13076 of *Salmonella* Enteritidis was obtained from the American Type Culture Collection. Heat resistance of the strains was tested in a chicken meat model medium, packed both under atmospheric conditions and under vacuum. Heat treatments were performed at 55–60–65 °C, in the denaturation temperature range of meat proteins.

A suspension adjusted to 0.5 to 1.0 McFarland units (10⁸ CFU/ml) was prepared from a pure culture of *Salmonella* Enteritidis prepared on XLD (Xylose-Lysine-Deoxycholate) agar and incubated under aerobic conditions for 24 hours. According to the sous-vide technology, the surface of the chicken breast was baked in a pan for a few seconds, then it was ground. To 10 g of the ground chicken breast, 80 cm³ BPW and 10 cm³ of the suspension were added. From the mixture thus obtained, a number of samples, corresponding to the sampling frequency, was prepared, and half of them were vacuum packed. The sampling frequency was 5 minutes at 55 °C, 5 minutes at 60 °C, and 0.5 minute at 65 °C both for samples packed under atmospheric conditions and under vacuum.

A suspension adjusted to 0.5 to 1.0 McFarland units (10⁸ CFU/ml) was prepared from a pure culture of *Clostridium perfringens* prepared on RCM agar and incubated under anaerobic conditions for 48 hours. Samples were inoculated with 10 cm³ of this suspension. From the mixture thus obtained, a number of samples, corresponding to the heat treatments, was prepared, and half of them were vacuum packed. Heat treatments were performed in the circulating, controlled temperature equipment recommended for the sous-vide technology. Sampling frequency was temperature dependent, 10 minutes at 55 °C, 5 minutes at 60 °C, 1 minute at 65 °C.

Decimal dilution series were prepared from the heat treated samples up to the 10⁸ member, 1 cm³ quantities of each of these were pipetted into sterile Petri dishes, then agar plates were poured using TSA (Tryptone-Soya-Agar) culture medium. After solidification, they were incubated at 37 °C for 72 hours under anaerobic conditions in the case of *Clostridium perfringens*, and at 37 °C for 24 hours in the case of *Salmonella* Enteritidis. Two parallel inoculations were performed for each dilution. Our tests were performed as 3 independent experiments. Those dilution levels were included in the evaluation, where the number of developed colonies on the plate was between 10 and 300. The number of cells surviving the heat treatment was given as the weighted average of the colony counts of the assessable plates, taking into consideration the degree of dilution, based on a certain formula.

In our experiments, heat destruction parameters were determined:

- **Decimal reduction time:** the time „t” required for the number of surviving cells to be reduced to 10% of the original value is called the decimal reduction time. It is indicated with a D. The decimal reduction time is an indicator of the resistance of the microbial population. The D value is only unambiguous, if the extent of the impact for which it is given is also stated, e.g., D₆₅ is the decimal reduction time for 65 °C.

- **z value:** Temperature dependence of the decimal reduction time is characterized by the z value, which shows how many degrees Celsius the temperature should be raised in order for the decimal reduction time to be reduced by an order of magnitude, i.e., for a tenfold reduction.
- **The temperature coefficient (Q₁₀)** shows how much the strain death rate will increase if the temperature is raised by 10 °C.
- **Relative thermal death rate (RTDR):** the rate of microbial death, compared to that measured at 70 °C.
- **Relative thermal death time (RTDT):** expressed as the reciprocal of the relative thermal death rate.
- During statistical evaluation of the results, F- and t-tests were applied in order to determine whether there is a correlation between the packaging method and the extent of the germ-killing effect.

4. Results

A survival curve is obtained by plotting the change in the common logarithm of the living cell count (lgN CFU/cm³) of the *Salmonella* Enteritidis ATCC-13076 strain samples packed under atmospheric conditions and under vacuum as a function of time, the slope of which can be used for the calculation of the decimal reduction time. Survival curves based on data obtained during the heat treatment of *Salmonella* Enteritidis ATCC-13076 strain samples at 55 °C, 60 °C and 65 °C are shown in **Figures 1-3**.

By plotting the logarithms of the decimal reduction times against treatment temperatures, the heat resistance curve is obtained, shown in **Figures 4-5**. The change in the resistance of the microorganism as a function of the deadly heat intensity is indicated by the slope of the curve, and from it the z value can be determined.

Based on **Figures 4-5**, heat destruction parameters, the z value, the value of the Q₁₀ temperature coefficient, the relative thermal death rate (RTDR) and the relative thermal death time (RTDT) were determined. Parameters are summarized in **Tables 1-2**.

Literature decimal reduction times: D₅₈=7.08 minutes, D₆₀=5.2 minutes and D₆₅=0.59 minute were measured in ground chicken by Juneja et al. in 2001, while D₆₀=3.94 minutes and D₆₅=0.941 minute were measured by them in 2012, also in ground chicken. The z value measured by Juneja et al. in 2001 between 58 and 65 °C in ground chicken was 8.83 °C [8].

Changes in the vegetative cell count of the samples of the *Clostridium perfringens* NCAIM B01417^T strain due to heat treatment can be determined from the survival curves, as shown in **Figures 6-8**.

Heat resistance and majority death curves, plotted as the logarithms of the decimal reduction times, determined from the slopes of the survival curves, against the temperature, are shown in **Figures 9-10**.

Based on **Figures 9-10**, heat destruction parameters, the z value, the value of the Q₁₀ temperature coefficient, the relative thermal death rate (RTDR) and the relative thermal death time (RTDT) were determined. Parameters are summarized in **Tables 1-2**.

2. A túlélési görbék meredeksége alapján megállapítható, hogy a vizsgált hőfokokon (55 °C, 60 °C és 65 °C) a vákuumcsomagolt mintáknál volt nagyobb a meredekség, amely intenzívebb hőpusztulást jelent. A görbék továbbá azt mutatják, hogy a vákuumcsomagolt termékeknel lényegesen rövidebb idő alatt csökken a vegetatív élősejtek száma a kimutathatósági szint alá, tehát a patogén csírák elpusztításához kevesebb időre van szükség a sous-vide termékek esetében, mint a kontroll, azaz a légköri mintáknál.
3. A túlélő, hőrezisztens sejtek számának t-próbával végzett összehasonlítás eredményeként a *null hipotézist* – miszerint a sejt-számok átlagértékei megegyeznek – elvetjük, és az *alternatív hipotézist* fogadjuk el, amely szerint a két minta átlaga nem véletlenül különbözik egymástól: a nagyobb mértékű csírapusztító hatás azonos feltételek mellett a vákuum csomagolás hatására következett be.

Ezek alapján kijelenthetjük, hogy a sous-vide technológia vákuumcsomagolása egyértelműen javítja a sous-vide termékek mikrobiológiai minőségét, rövidebb idő alatt nagyobb mértékű csírapusztító hatás következik be a hőkezelés folyamán.

Az optimális hőkezelési paraméterekre a következő ajánlásokat tehetjük:

A sous-vide technológiával készített, vákuumcsomagolt csirkehúsok esetében a *Salmonella* Enteritidis ATCC-13076 törzs kimutathatósági határ alatti sejt-számának eléréséhez 55 °C-on 35 perc, 60 °C-on 20 perc, 65 °C-on 2,5 perc hőtartási idő szükséges. A *Clostridium perfringens* NCAIM B 01417^T törzs esetében 55 °C-on 60 perc, 60 °C-on 30 perc, 65 °C-on 4 perc hőkezelési időtartamokat javasolunk.

6. Irodalom / References

- [1] Fellows, P. (2000): Food processing technology: principles and practice Woodhead Publishing Limited, Cambridge
- [2] Waldroup, A., L. (1996): Contamination of raw poultry with pathogens. World's Poultry Science Journal 52, p. 7-25
- [3] McNamara, A. - Lattuade, C. (1998): Examination of meat and poultry products for *Clostridium perfringens* In USDA/FSIS Microbiology Laboratory Guidebook. Food Safety and Inspection Services (FSIS). <http://www.fsis.usda.gov/OPHS/microlab/mlgchp13.PDF> Letöltve: 2015.02.05.
- [4] Farkas J., Kiss L., Ormay L., Takács J., Vörös J. (1978). Mikrobiológiai vizsgálati módszerek az élelmiszeriparban 2. Minőségi vizsgálatok. A mikroorganizmusok kimutatása. Budapest: Mezőgazdasági Könyvkiadó pp. 115-117
- [5] EFSA (European Food Safety Authority) (2011): The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2009 EFSA Journal, 9, (3) p. 2090-2468
- [6] Szeitzné Szabó M., Krisztalovics K., Stéterné Lancz Zs., Fehér Á., Cseh J. (2008): Élelmiszer-vizsgálati Közlemények, 54, Mikrobiológiai Külsőszám p. 11-15
- [7] Epidemiológiai Információs Hetilap (2015)
- [8] Juneja, V., K., Eblen, B., S., Ransom, G., M. (2001): Thermal inactivation of *Salmonella* spp. in chicken broth, beef, pork, turkey, and chicken: Determination of d- and z values. Journal of Food Science 66, (1) p. 146-152
- [9] Byrne, B., Dunne, G., Bolton, D. J. (2006): Thermal inactivation of *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens* vegetative cells and spores in pork luncheon roll. Food Microbiology 23, p. 803-808
- [10] Juneja, V. K. - Marmer B. S. (1996): Growth of *Clostridium perfringens* from spore inocula in sous-vide turkey products' International Journal of Food Microbiology 32, (1-2) 115-123

EPINFO (2014). Hazai járványügyi helyzet általános jellemzése. Fertőző betegségek adata, 21, (51-52), 625.

Literature data: $D_{55}=16.3$ minutes, $D_{60}=8.5$ minutes and $D_{65}=0.8$ minute were measured in 2006 by Byrne et al. in pork [9], and a value of $D_{55}=17.5$ minutes was published by Juneja and Marmor (1996) as a result of their experiments with turkey meat [10]. A z value of 7.7 °C between 55 °C and 60 °C was calculated by Byrne et al. in 2006 from the results of their experiments.

5. Conclusions

Based on our experiments, the following statements can be made:

1. Survival curves show that, during the heat treatment of the vacuum packed samples of the *Salmonella* Enteritidis ATCC-13076 strain and the *Clostridium perfringens* NCAIM B 01417T strain performed at 55 °C, 60 °C and 65 °C, the living cell count of samples taken at minute 0 of the heat treatment was usually two orders of magnitude lower than that of atmospheric samples. The reason for this, in addition to cell death due to heat, is that the death of cells less tolerant of pressure change is more pronounced in this period.
2. Based on the slopes of the survival curves it can be stated that, at the temperatures investigated (55 °C, 60 °C and 65 °C), the slope was greater for vacuum packed sample, meaning that the heat death was more intense. The curves also show that, for vacuum packed products, the time required for vegetative living cell count to fall below detectable levels is significantly shorter, therefore, it takes less time to destroy pathogenic germs in the case of sous-vide products than in the case of control, i.e., atmospheric samples.

3. As a result of the comparison of surviving, heat-resistant cells performed using a t-test, the *null hypothesis* – that average cell count values are the same – is rejected, and the *alternative hypothesis* is accepted, according to which the averages of the two samples are not inadvertently different: under the same conditions, the greater germ-killing effect was due to vacuum packaging.

Based on this, we can conclude that the microbiological quality of sous-vide products is clearly improved by the vacuum packaging of the sous-vide technology, there is a greater germ-killing effect during the heat treatment in a shorter period of time.

For optimal heat treatment parameters, we make the following recommendations:

In the case of vacuum packed chicken meat prepared using the sous-vide technology, to reach cell counts below the limit of detection for the *Salmonella* Enteritidis ATCC-13076 strain, heat treatment times of 35 minutes at 55 °C, 20 minutes at 60 °C and 2.5 minutes at 65°C are necessary. In the case of the *Clostridium perfringens* NCAIM B 01417^T strain, the recommended heat treatment times are 60 minutes at 55 °C, 30 minutes at 60 °C and 4 minutes at 65 °C.



A kép illusztráció / The picture is illustration

1. táblázat A *Salmonella* Enteritidis ATCC-13076 légköri mintáinak hőpusztulási paramétereit
Table 1. Heat destruction parameters of *Salmonella* Enteritidis ATCC-13076 at atmospheric pressure samples

(1)Temperature (2) decimal reduction times (3) logarithmic values of the decimal reduction times (4) logarithmic values of the decimal reduction times+12 (5) z value (6) death coefficient (7) relative thermal death rate (RTDR) (8) relative thermal death time (RTDT)

Hőfok (1)	Tizedelési idő (perc)(2)	log D(3)	log t (4)	z (°C) (5)	Q ₁₀ (6)	RPS (1/min) (7)	RPI (min) (8)
55°C	9,21	0,96	2,04	8,1	16,74	0,0145	68,55
60°C	5,66	0,75	1,83			0,0597	16,75
65°C	0,55	-0,25	0,81			0,2443	4,09

2. táblázat A *Salmonella* Enteritidis ATCC-13076 vákuum csomagolt mintáinak hőpusztulási paramétereit
Table 2 Heat destruction parameters of *Salmonella* Enteritidis ATCC-13076 in vacuum packed samples

(1)Temperature (2) decimal reduction times (3) logarithmic values of the decimal reduction times (4) logarithmic values of the decimal reduction times+12 (5) z value (6) death coefficient (7) relative thermal death rate (RTDR) (8) relative thermal death time (RTDT)

Hőfok (1)	Tizedelési idő (perc)(2)	log D(3)	log t(4)	z °(C)(5)	Q ₁₀ (6)	RPS (1/min) (7)	RPI (min) (8)
55°C	5,63	0,75	1,82	8,6	14,42	0,01	54,76
60°C	2,78	0,44	1,51			0,06	14,42
65°C	0,39	-0,48	0,58			0,26	3,80

3. táblázat A *Clostridium perfringens* NCAIM B 01417^T légköri mintáinak hőpusztulási paramétereit
Table 1 Heat destruction parameters of *Clostridium perfringens* NCAIM B 01417^T at atmospheric pressure

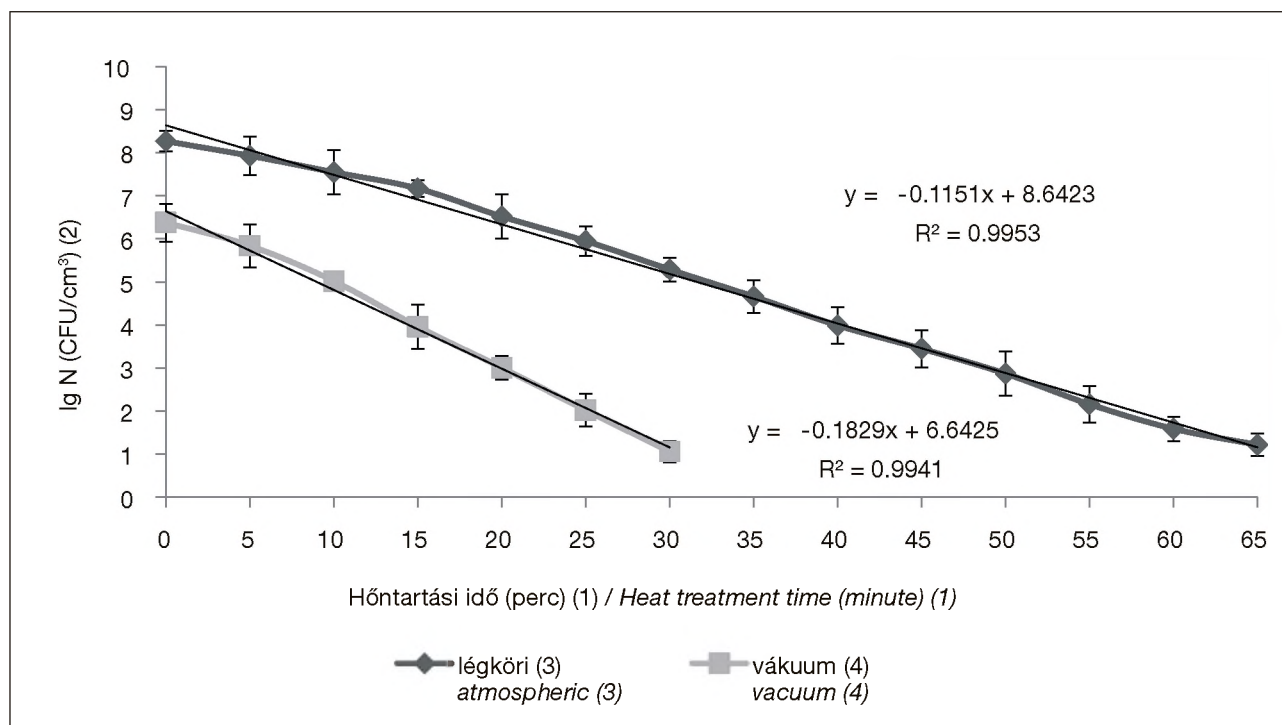
(1)Temperature (2) decimal reduction times (3) logarithmic values of the decimal reduction times (4) logarithmic values of the decimal reduction times+12 (5) z value (6) death coefficient (7) relative thermal death rate (RTDR) (8) relative thermal death time (RTDT)

Hőfok (1)	Tizedelési idő (perc)(2)	log D(3)	log t(4)	z °(C)(5)	Q ₁₀ (6)	RPS (1/min) (7)	RPI (min) (8)
55°C	15,7	1,195	2,27	8,0	17,66	0,01	74,21
60°C	8,64	0,936	2,01			0,05	17,66
65°C	0,89	-0,050	1,02			0,23	4,20

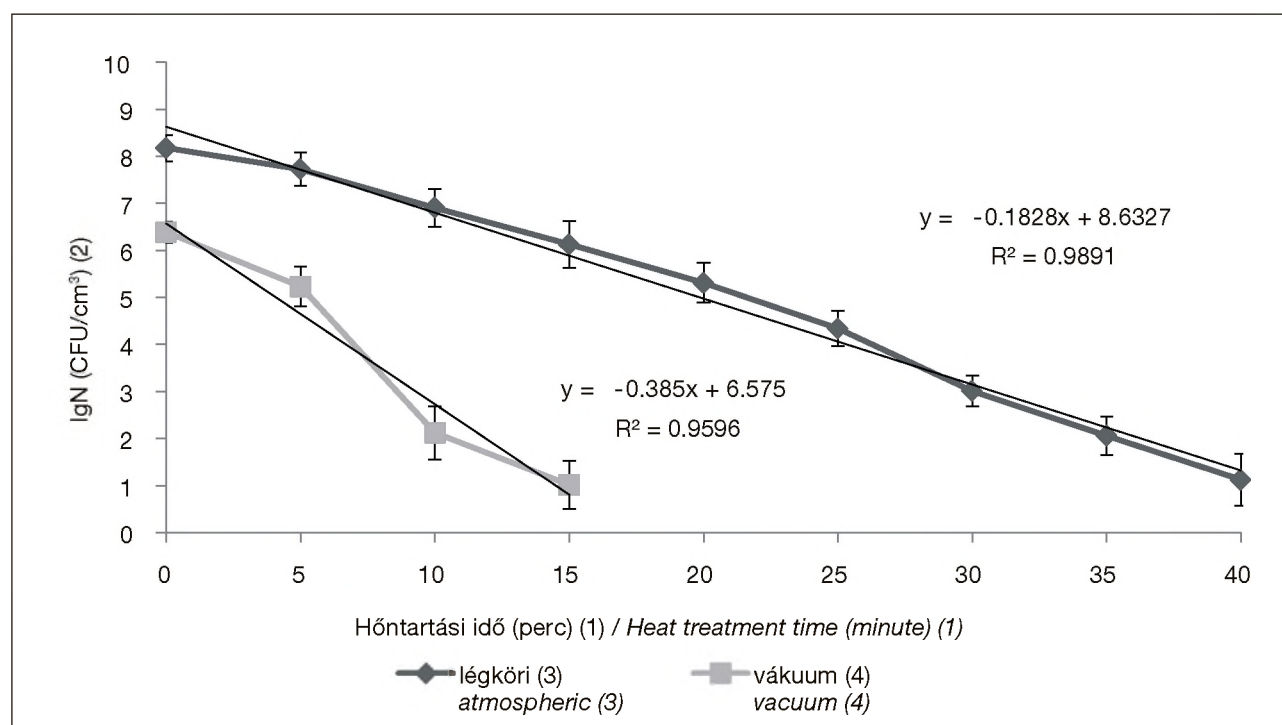
4. táblázat A *Clostridium perfringens* NCAIM B 01417^T vákuumcsomagolt mintáinak hőpusztulási paramétereit
Table 2 Heat destruction parameters of *Clostridium perfringens* NCAIM B 01417^T in vacuum packed samples

(1)Temperature (2) decimal reduction times (3) logarithmic values of the decimal reduction times (4) logarithmic values of the decimal reduction times+12 (5) z value (6) death coefficient (7) relative thermal death rate (RTDR) (8) relative thermal death time (RTDT)

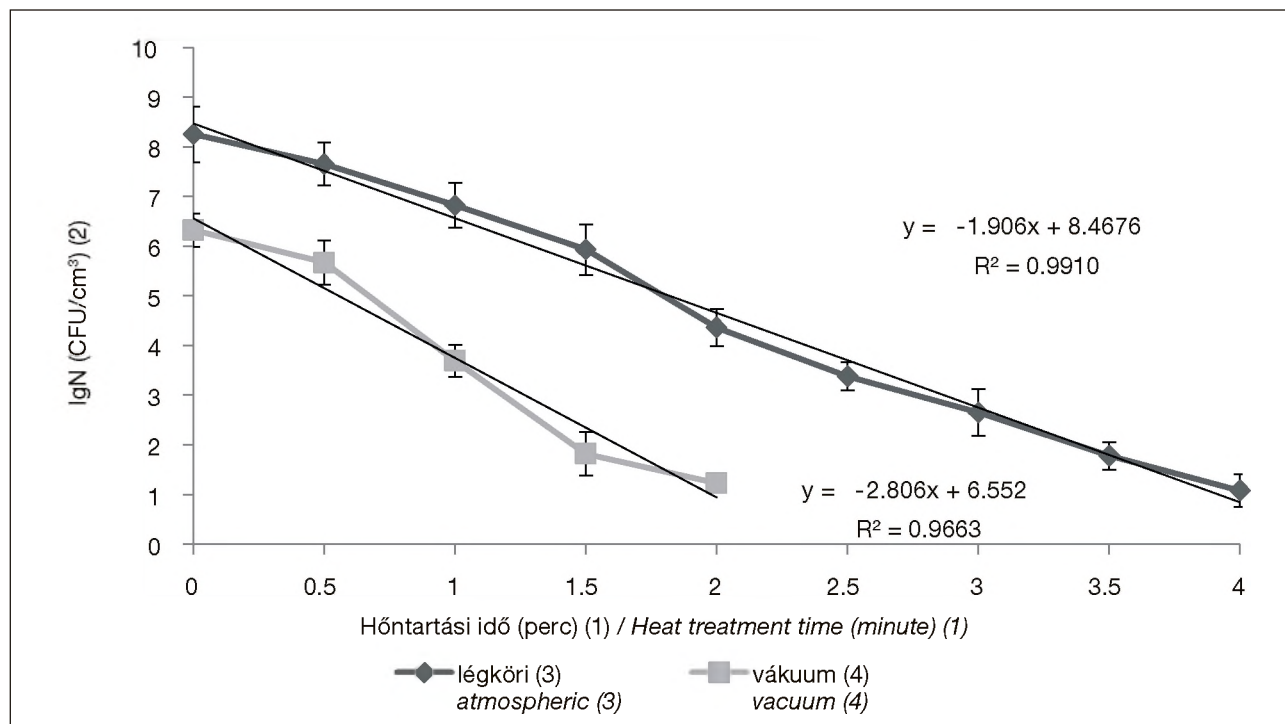
Hőfok (1)	Tizedelési idő (perc)(2)	log D(3)	log t(4)	z °(C)(5)	Q ₁₀ (6)	RPS (1/min) (7)	RPI (min) (8)
55°C	8,63	0,94	2,01	8,1	16,9	0,01	69,50
60°C	4,9	0,69	1,77			0,05	16,90
65°C	0,59	-0,23	0,85			0,24	4,11



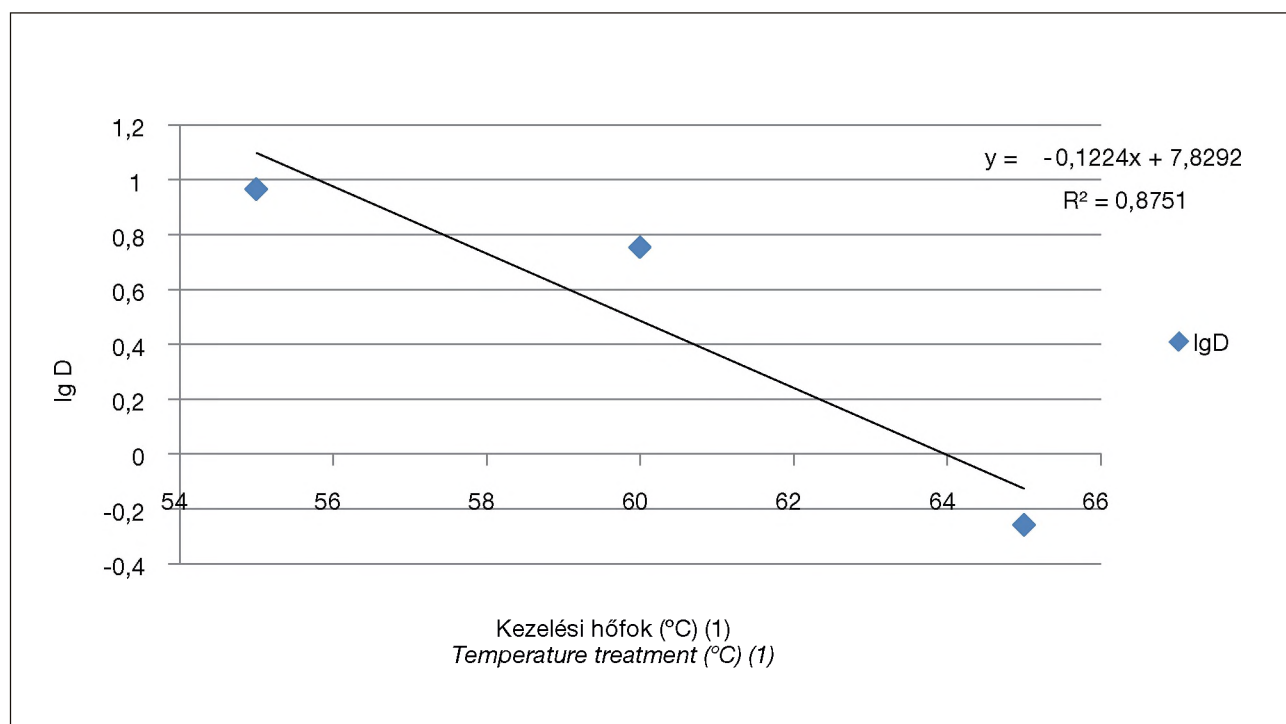
1. ábra A *Salmonella Enteritidis* ATCC-13076 túlélési görbéi 55 °C-on csirkehúsos modell közegben
 Figure 1. Survival curves of *Salmonella Enteritidis* ATCC-13076 at 55 °C in food matrix
 (1) Heat treatment (2) lgN(CFU/ml) (3) atmospheric (4) vacuum



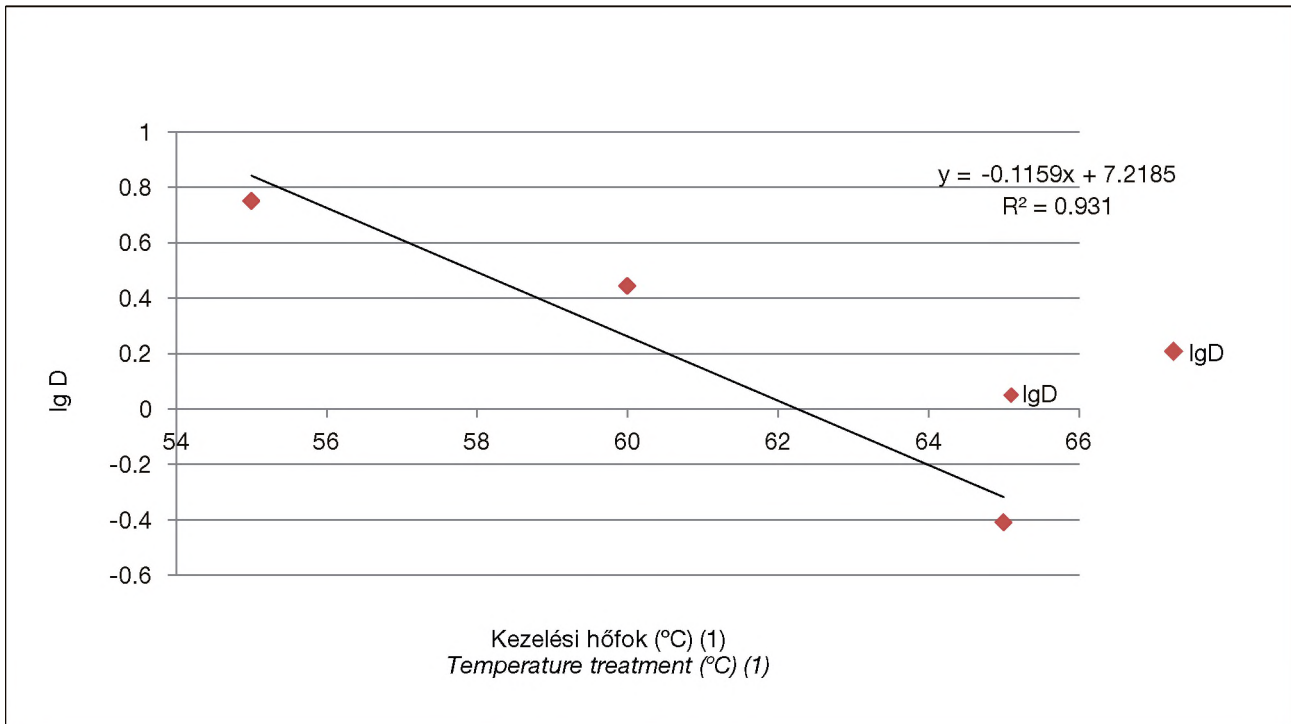
2. ábra A *Salmonella Enteritidis* ATCC-13076 túlélési görbéi 60 °C-on csirkehúsos modell közegben
 Figure 2. Survival curves of *Salmonella Enteritidis* ATCC-13076 at 60 °C in food matrix
 (1) Heat treatment (2) lgN(CFU/ml) (3) atmospheric (4) vacuum



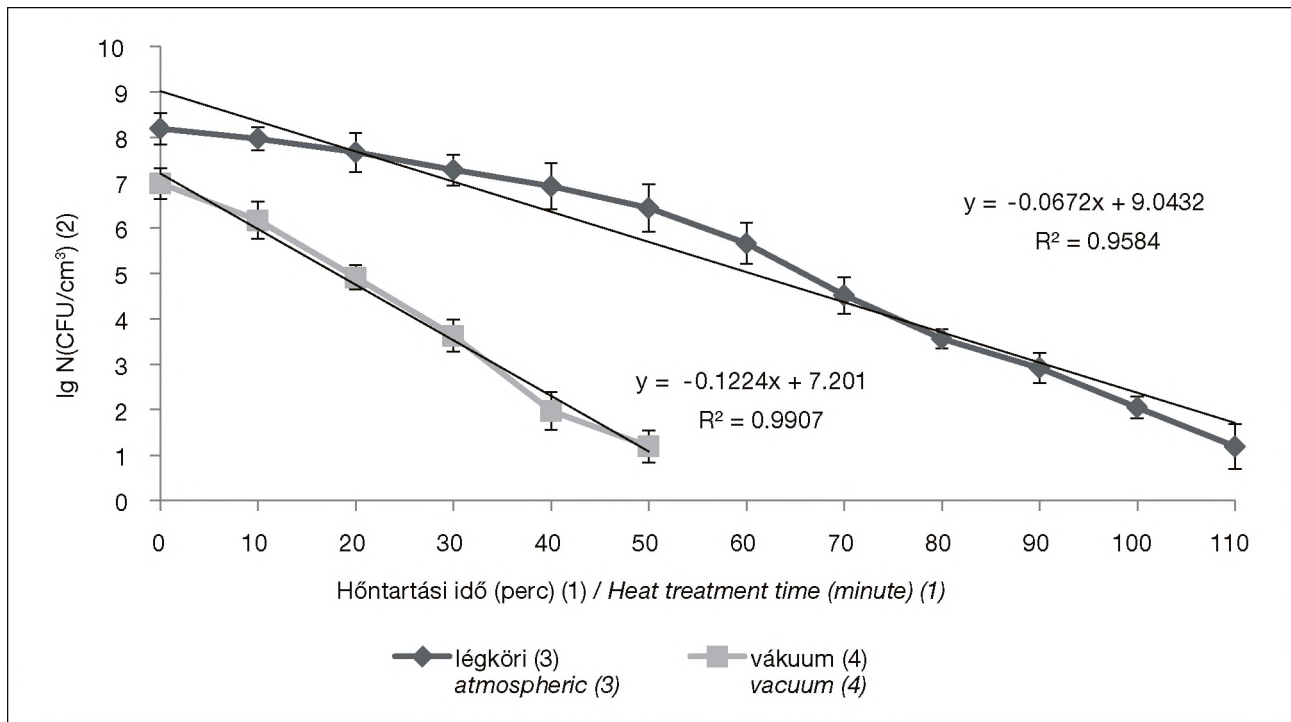
3. ábra A *Salmonella Enteritidis* ATCC-13076 túlélési görbéi 65 °C-on csirkehúsos modell közegben
 Figure 3. Survival curves of *Salmonella Enteritidis* ATCC-13076 at 65 °C in food matrix
 (1) Heat treatment (2) lgN(CFU/ml) (3) atmospheric (4) vacuum



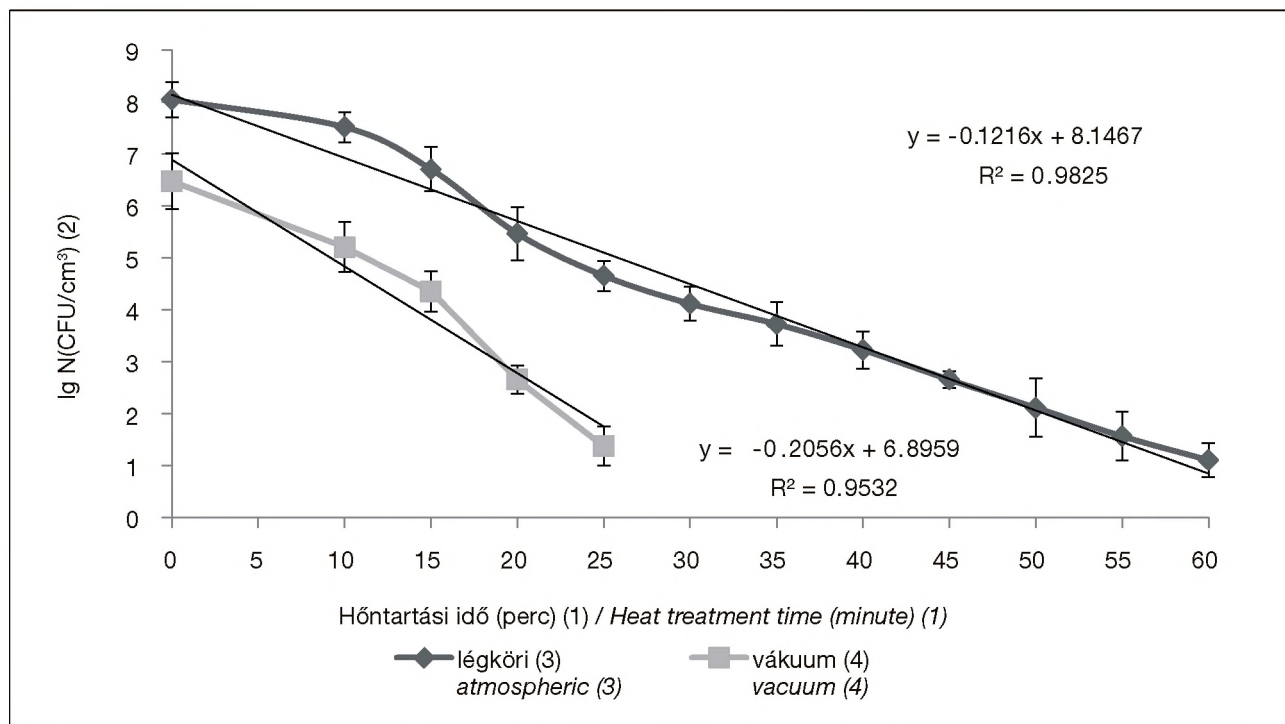
4. ábra A *Salmonella Enteritidis* ATCC-13076 rezisztencia görbe légköri minták
 Figure 4. Heat resistance curves of *Salmonella Enteritidis* ATCC-13076 at atmospheric pressure



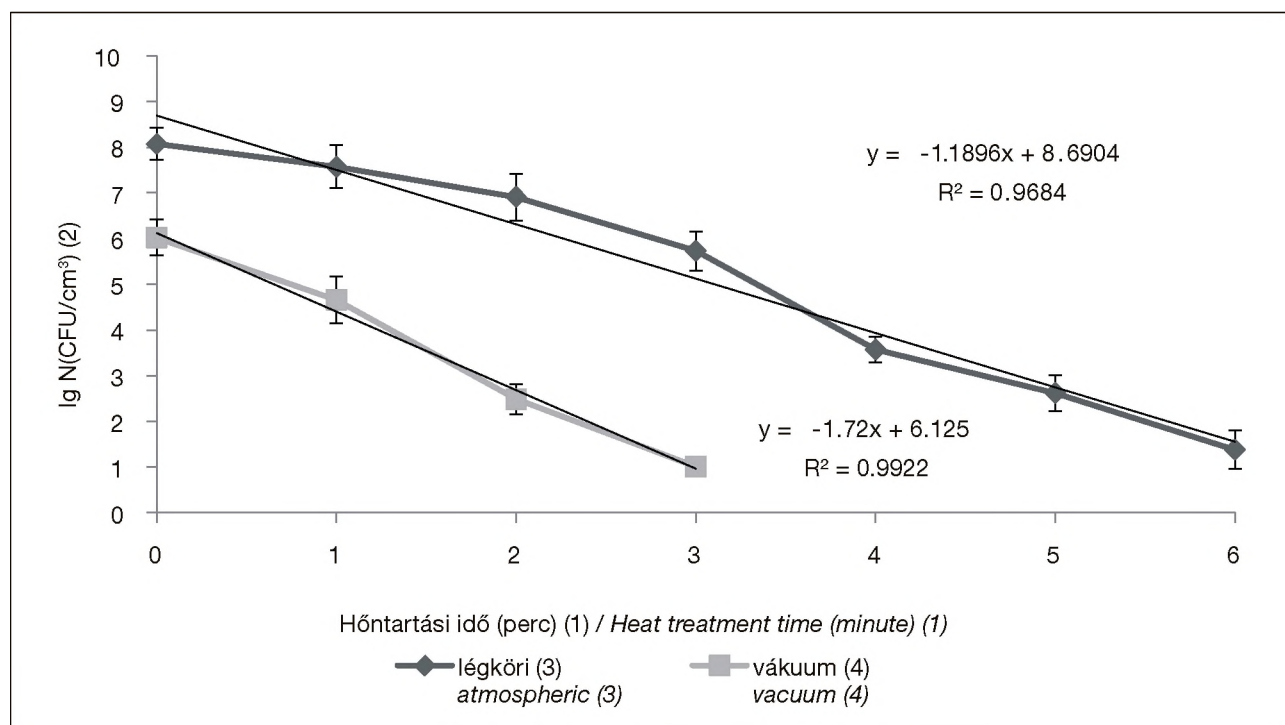
5. ábra A *Salmonella Enteritidis* ATCC-13076 rezisztencia görbe vákuumcsomagolt minták
Figure 5. Heat resistance curves of *Salmonella Enteritidis* ATCC-13076 under vacuum



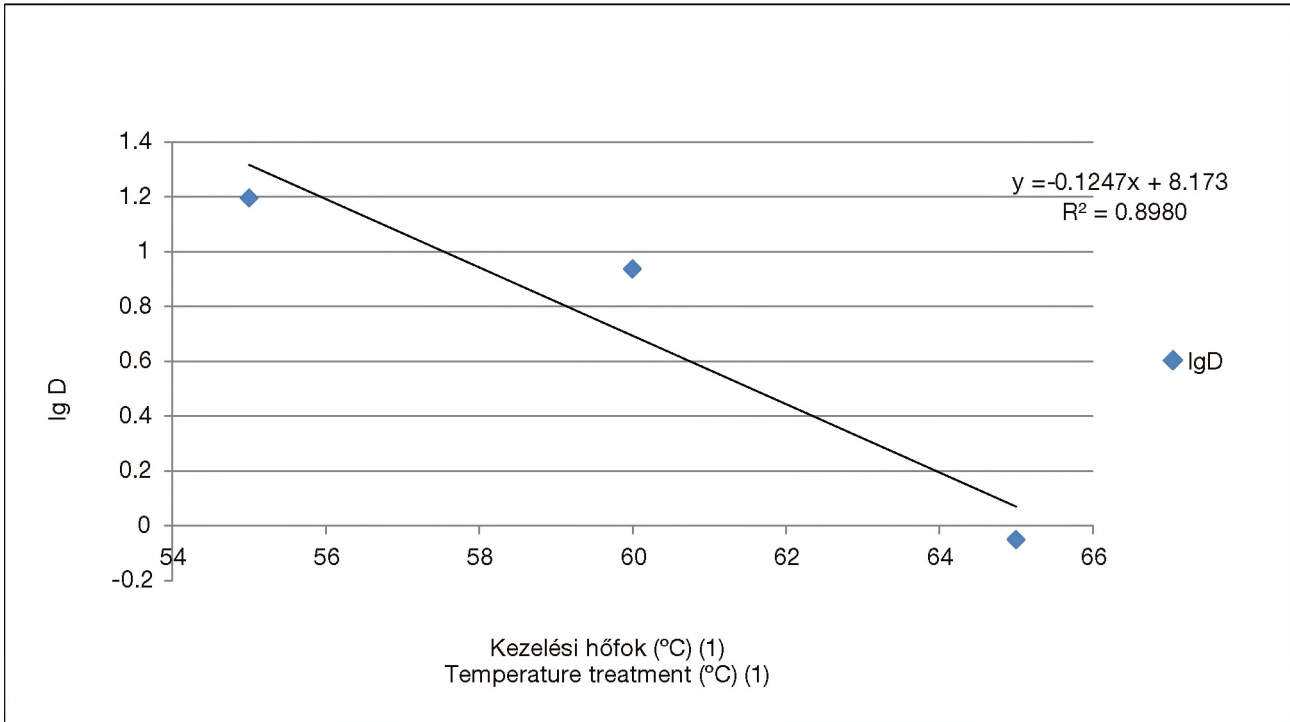
6. ábra A *Clostridium perfringens* NCAIM B 01417T túlélési görbéi 55 °C-on csirkehúsos modell közegben
Figure 6. Survival curves of *Clostridium perfringens* NCAIM B 01417T at 55 °C in food matrix
(1) Heat treatment (2) lgN(CFU/ml) (3) atmospheric (4) vacuum



7. ábra A *Clostridium perfringens* NCAIM B 01417T túlélési görbéi 60 °C-on csirkehúsos modell közegben
 Figure 7. Survival curves of *Clostridium perfringens* NCAIM B 01417T at 60.°C in food matrix
 (1) Heat treatment (2) lgN(CFU/ml) (3) atmospheric (4) vacuum

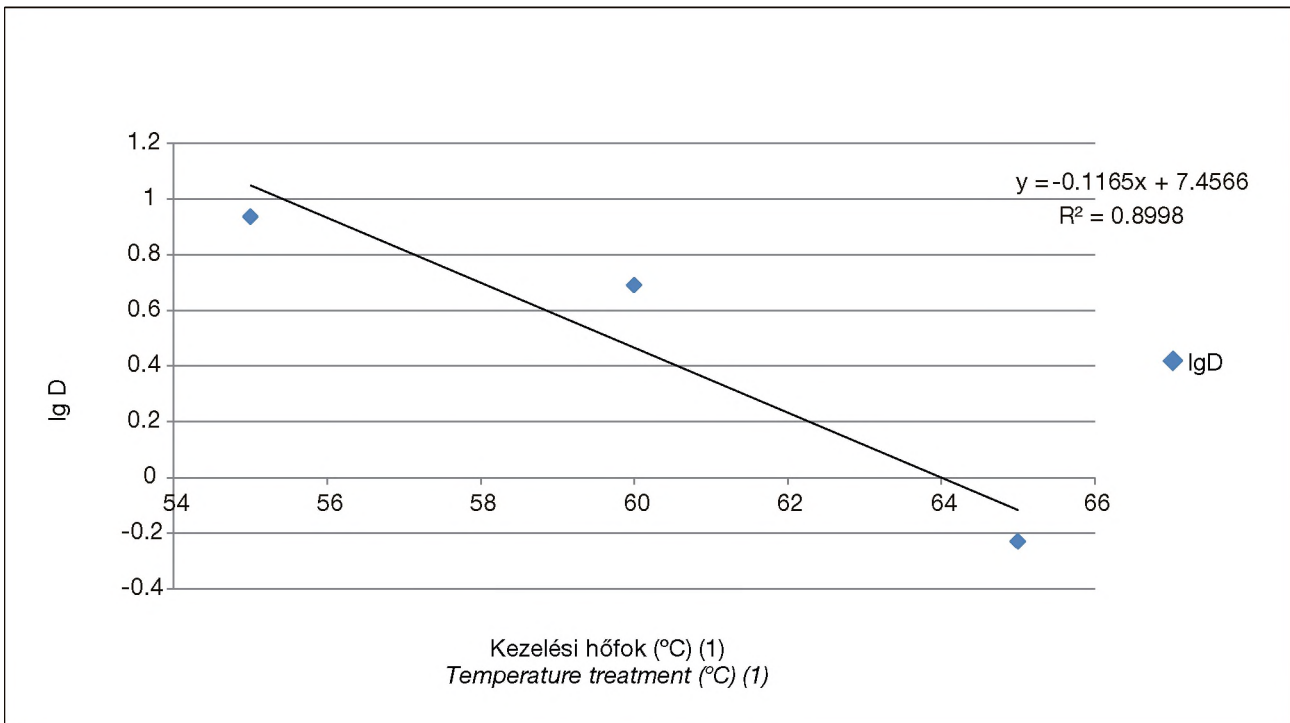


8. ábra A *Clostridium perfringens* NCAIM B 01417T túlélési görbéi 65 °C-on csirkehúsos modell közegben
 Figure 8. Survival curves of *Clostridium perfringens* NCAIM B 01417T at 65.°C in food matrix
 (1)Heat treatment (2) lgN(CFU/ml) (3) atmospheric (4) vacuum



9. ábra A *Clostridium perfringens* NCAIM B 01417^T vegetatív sejtjeinek hő rezisztencia görbéje légköri nyomáson csomagolt minták

Figure 9. Heat resistance curves of *Clostridium perfringens* NCAIM B 01417^T vegetative cells at atmospheric pressure



10. ábra A *Clostridium perfringens* NCAIM B 01417^T vegetatív sejtjeinek hő rezisztencia görbéje vákuumcsomagolt minták

Figure 10. Heat resistance curves of *Clostridium perfringens* NCAIM B 01417^T vegetative cells under vacuum