



***Clostridium perfringens* spórák hőtűrésének vizsgálata**

Sipos-Kozma Zs., Szigeti J., Varga L., Ásványi B.

Nyugat-Magyarországi Egyetem, Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar
9200 Mosonmagyaróvár, Lucsony utca 15-17.

ÖSSZEFOGLALÁS

Vizsgálataink célja víziszárnyas májából előállított félkonzervek tartósításához szükséges minimális hődózis érték meghatározása úgy, hogy a hőkezelési hőmérsékletek ne haladják meg a 100 °C-t. Clostridium perfringens NCAIM-B-01417 törzset spóráztattuk tápvelesben, majd az előállított spóraszuszpenzióval végeztük el a hőkezelési vizsgálatokat 80 °C, 85 °C, 90 °C, 95 °C-on. A kísérletek során 80 °C és 85 °C-on 45 perces, 90 °C-on 15, míg 95 °C-on 6 perces hőntartást végeztünk. Meghatároztuk a hőkezelés paramétereit és megállapítottuk, hogy a Clostridium perfringens NCAIM-B-01417 törzs esetében 85 °C-on 29 percre, míg 95 °C-on 5 percre van szükség a spórák két nagyságrendnyi csökkenéséhez, tehát lehetséges az alacsonyabb hőkezelési hőmérséklet alkalmazása a biztonságos mértékű spórapusztítás eléréséhez.

(Kulcsszavak: *Clostridium perfringens*, spóra dúsítás–szaporítás, hőkezelés)

ABSTRACT

Heat resistance of *Clostridium perfringens* spores

Zs. Sipos-Kozma, J. Szigeti, L. Varga, B. Ásványi
University of West Hungary, Faculty of Agricultural and Food Science
H-9200 Mosonmagyaróvár, Lucsony utca 15-17.

The purpose of our researches is to find out the minimal heat-dose, which is enough for canning the seafoowl liver conserves. It is crucial that the temperature, used during the heat treating cannot exceed 100 °C. *Clostridium perfringens* NCAIM-B-01417 tribe was developed in a certain broth, then the developed spore suspension was used for the heat treatment in 80 °C, 85 °C, 90 °C, 95 °C. During the heat treatment researches we kept the spore suspension on 80 and 85 °C for 45 minutes, on 90 °C for 15 minutes, on 95 °C for 6 minutes. After considering the parameters, it was declared that in for the *Clostridium perfringens* NCAIM-B-01417 tribe on 85 °C temperature 29 minutes, on 95 °C 5 minutes were needed for decreasing the number of spores with log₂. Consequently, it is possible to use lower temperature for the safe elimination of spores.

(Keywords: *Clostridium perfringens*, spore concentration- multiplication, heat-treatment)

BEVEZETÉS

Kísérletünk során *Clostridium perfringens* anaerob, patogén mikroorganizmus spóráinak hőtűrését vizsgáltuk, abból a célból, hogy megállapítsuk a minimális hődózis értéket úgy, hogy a hőkezelés hőmérséklete ne haladja meg a 100 °C-ot. Erre azért volt szükség, mert víziszárnyas májából olyan félkonzervet kívánunk előállítani, amelyek versenyképesek a hasonló francia termékekkel. A félkonzervek túlélő mikroflórája

között megtalálhatóak az anaerob spórás baktériumok. Ezek közül az egyik legjelentősebb a *Clostridium perfringens*.

Kísérleteink jelentőségét az is mutatja, hogy korábbi vizsgálatok során víziszárnyas májajkból izoláltak grammonként 5–10 db *C. perfringens* spórát (Turcsán et al., 2001), amely a Magyarországon alkalmazott melegbontásos technológiával magyarázható.

A *Clostridium perfringens*-t 1892-ben írta le Welch, aki *Bacillus aerogenes capsulatus*-nak nevezte el, később a *Bacillus phlegmonis emphysematosae* vagy a Fränkel-bacillus nevet kapta (Alföldy et al., 1963). Régebben *Clostridium welchii* néven volt közismert. A *C. perfringens* enterotoxint (CPE) termel sporuláció közben, amely általában a vékonybélben fordul elő. A CPE gén az ételmérgezéssel van kapcsolatban, általában a kromoszómában helyezkedik el, míg a nem ételmérgező CPE gén általában plazmidon kódolt formában található (Collie és McClane, 1998).

A *Clostridium perfringens* ételmérgezésben játszott szerepét a hetvenes évek végén ismerték fel (Wolf és Lechowich, 1989). A *Clostridium perfringens* okozta ételmérgezés akkor fordulhat elő, ha a húst a hőkezelést követően, nem megfelelően tárolják. Az oxigénszint ugyanis elegendő mértékben redukálódik a hőkezelés során ahhoz, hogy az obligát anaerob klosztridiumok elszaporodhassanak (Farkas et al., 1978). Ételmérgezés létrejöttéhez 10^6 - 10^7 /g mennyiségben jelen lévő, életképes vegetatív sejt szükséges (McNamara és Lattuade, 1998), azonban 10^5 /g csíraszám is elegendő a megbetegedés létrejöttéhez (Labbe és Juneja, 2002; Rodler, 2005). Az ételmérgezés következtében fellépő hasmenés és a hasi fájdalom 8–14 órával a fertőzött étel fogyasztását követően jelentkezik, és 2–24 óráig tart. Általában egy nap elteltével a tünetek megszűnnek (Hobbs et al., 1953).

A mikroorganizmusok hőpusztulása

A mikroorganizmusok hőtűrése elsődlegesen genetikailag meghatározott faji tulajdonság, ami a környezeti körülmények szerint változhat. A mikroorganizmusok pusztulását a szaporodásra képes, túlélő sejtek kimutatásával vizsgáljuk. A túlélési görbe ideális esetben teljes egészében, egyébként csak egy bizonyos szakaszban lineáris, vagyis az élősejt-szám változása nem mindig exponenciális jellegű. A nem exponenciális jellegű pusztulási folyamat magyarázata a mikrobapopuláció sejtjeinek eltérő rezisztenciája. Amennyiben a pusztulás nem exponenciális, akkor a pusztulási sebesség, illetve a tizedelési idő (D) nem állandó, és nem lehet a többségi pusztulási időt a D többszörösével számolni (Deák, 2006).

A mikroorganizmusok hőpusztulásának vizsgálatához elengedhetetlen a tizedelési idő (D), a z-érték, a hőmérsékleti együttható (Q_{10}), a relatív pusztulási sebesség és idő (RPS; RPI) megállapítása, amelyek kísérleteink során *C. perfringens* esetében meghatározásra kerültek. Ha 't' az időtartam, amely alatt a túlélő sejtek száma tizedére csökken, akkor a tizedelési idő (D) fogalmához jutunk (Deák, 1979):

$$D = \frac{t}{\lg(N_1) - \lg(N_2)} \quad (1)$$

ahol: t a hőkezelés teljes időtartama [min],

N_1 a kiindulási sejtkoncentráció,

N_2 a végső sejtkoncentráció.

A mikroorganizmusok hőtűrése különböző és hőpusztulási sebességük is változik a hőmérséklettel, ezt jelzi a z-érték, ami a hőrezisztencia jellemzője, és a többségi pusztulási görbe meredekségének negatív reciproka (Deák, 2006):

$$\operatorname{tg} \alpha = -\frac{1}{z} \quad (2)$$

A hőmérsékletfüggés jellemzésére a hőmérsékleti együttható is (Q_{10}) használatos. A Q_{10} és a z -értékek közötti összefüggés meghatározása a többségi pusztulási görbe meredeksége alapján (Deák et al., 1999):

$$Q_{10} = 10^{\frac{10}{z}} \quad (3)$$

A többségi pusztulási görbe egyenletét meghatározva, bármely hőmérsékletre kiszámíthatjuk a pusztulási időt.

$$\lg \frac{F}{t} = \frac{T - T_{ref}}{z} = RPS \quad (4)$$

A $\lg F/t$ értékből származtatható az ún. relatív pusztulási sebesség (RPS) fogalma, amely azt fejezi ki, hogy az adott mikroba pusztulási sebessége valamely tetszőleges T hőmérsékleten hányszorosa, vagy hányad része a referencia hőmérsékleten (T_{ref}) mérhető sebességnek. A relatív pusztulási sebesség reciproka a relatív pusztulási idő (RPI) (Kovács, 1997).

ANYAG ÉS MÓDSZER

Vizsgálatainkat a Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteményéből (NCAIM) vásárolt *Clostridium perfringens* NCAIM-B-01417 törzssel végeztük. A liofilezett törzset 500 cm³ Reinforced Clostridial Medium (RCM) tápveszben élesztettük fel, és anaerob körülmények között 37±1 °C-on 7 napig inkubáltuk, ezt követően 4±3 °C-os hűtőbe helyeztük 24 órára. Az elkészült tenyészetek tisztaságát Gram festéssel, valamint Rapid™ ANA II System (Remel, Lenexa, USA) segítségével ellenőriztük.

Az inkubálást követően 30 cm³-es steril centrifugacsövekbe osztottuk szét a szuszpenziókat, majd 10 °C-on 4500 g-n centrifugáltuk. Ezt követően a keletkezett felülúszót eltávolítottuk, majd negyed-erősségű Ringer oldattal töltöttük fel a centrifugacsövek tartalmát.

Vegetatív sejtszám és spóraszám meghatározása

A tisztítást követően meghatároztuk a szuszpenzió vegetatív sejtszámát és spóraszámát. Az előbbi esetben Plate Count (PC) és Tryptose Sulfite Cycloserine (TSC) agarral végeztünk lemezöntést, utóbbi esetében pedig 80 °C-on 10 percig tartó hőkezelést követően az előzőekben említett táptalajok segítségével határoztuk meg a vegetatív sejt és spóraszámot. A lemezeket 37±1 °C-on, 3 napig (PC), illetve 44±1 °C-on 1 napig (TSC) anaerob körülmények között inkubáltuk.

A tizedelési idő (D) és a z -érték meghatározási kísérletekhez szükséges spórákoncentráció eléréséhez egy-egy centrifugacső tartalmát a spórázás elősegítése céljából 100 cm³ Duncan és Strong (1968) által javasolt és azóta is alkalmazott (Byrne és munkatársai, 2006) spóráztató tápveszbe helyeztük. Az inkubálást három napig anaerob körülmények között 37±1 °C-on végeztük, majd az inkubációs idő lejártá után egy napra 4±3 °C-os hűtőszekrénybe helyeztük. Ezt követően meghatároztuk ismételtén a spóraszámot a már említett módszer alapján.

Hőkezelési kísérletek

A spóráztatás után a *Clostridium perfringens* NCAIM-B-01417 spóraszuszpenzió 10–10 cm³-ét steril kémcsőbe pipettáztuk és 80 °C, 85 °C, 90 °C, 95 °C hőmérsékletű

vízfürdőben hőkezeltük. A *Clostridium perfringens* NCAIM-B-01417 törzssel 80 °C 45 percig, 85 °C-on 30 percig végeztük a hőkezelést 5 percenkénti leoltásokkal, 90 °C-on 10, míg 95 °C-on 6 percig tartottak a hőkezelési vizsgálatok, percenkénti leoltásokkal. A hőkezelt spóraszuszpenzióból lemezöntéses módszerrel PC táptalajon meghatároztuk a spóraszámot anaerob körülmények között 37±1 °C-on, 3 napig inkubálva. Az inkubációs idő lejártá után a csíraszámot az értékelésbe bevont lemezekon megszámlált telepszámok súlyozott átlagaként adtuk meg a hígítás mértékének figyelembe vételével az alább képlet segítségével:

$$\bar{C} = \frac{\sum c}{(n_1 + 0,1n_2) \times V \times d} \quad (4)$$

\bar{C} = telepszám súlyozott középértéke,
 $\sum c$ = a számításba bevont valamennyi lemez telepeinek összege,
(legalacsonyabb és az azt követő kiértékelhető hígítási fokok),
 n_1 = az első kiértékelhető hígítási fokhoz tartozó lemezek száma,
 n_2 = a következő kiértékelhető hígítási fokhoz tartozó lemezek száma,
 d = az első kiértékelési szint hígítási foka,
 V = a lemezekre vitt kultúra mennyisége (jelen esetben 1 ml).

A hőkezelési vizsgálatokat 3–3 független ismétlésben, két párhuzamos kísérletben végeztük.

EREDMÉNY ÉS ÉRTÉKELÉS

Vegetatív sejtszám és spóraszám meghatározás eredményei

A *Clostridium perfringens* NCAIM-B-01417 törzs felélesztés után előállított tömény szuszpenziójában a vegetatív sejtszám PC táptalajon $1,6 \times 10^3$, TSC táptalajon $1,5 \times 10^3$ volt. A szuszpenzióban spórázó alakot nem mutattunk ki, ezért a spórázás elősegítése érdekében spóráztató táplevesbe helyeztük. A *Duncan és Strong* (1968) által ajánlott táplevesben elvégzett spóráztatás eredményeként a *Clostridium perfringens* NCAIM-B-01417 spóraszám $2,8 \times 10^4$ CFU/cm³ lett.

Hőkezelési kísérletek eredményei

A 80 °C, 85 °C, 90 °C, 95 °C-on elvégzett hőkezelési kísérletek eredményeit az 1. ábra szemlélteti.

A három független ismétlés, valamint az ezeken belüli párhuzamosok *Clostridium perfringens* NCAIM-B-01417 spóraszámai között nem mutatkozott szignifikáns ($P < 0,05$) eltérés.

Clostridium perfringens NCAIM-B-01417 túlélési görbéiből (1. ábra) megállapítható, hogy 80 °C-on a kiindulási $2,8 \times 10^4$ CFU/cm³-es spóraszám a hőntartási idő 45. percére egy nagyságrenddel csökkent ($9,8 \times 10^2$ CFU/cm³). A 85 °C-on a kiindulási spóraszám $2,8 \times 10^4$ CFU/cm³ volt, amely a vizsgálat 30. hőntartási percére $2,3 \times 10^2$ CFU/cm³-re csökkent. 90 °C-on a *C. perfringens* NCAIM-B-01417 kiindulási spóraszám $2,8 \times 10^4$ CFU/cm³ volt, amely a hőkezelés 10. percére közel három nagyságrendet csökkent ($3,9 \times 10^1$ CFU/cm³). 95 °C-on a hőkezelés 6 perce alatt a kezdeti $2,8 \times 10^4$ CFU/cm³-es spóraszám $4,7 \times 10^1$ CFU/cm³-re csökkent. A túlélési görbe lineáris szakaszáról a tizedelési idő (D) kiszámítható, amelyeket az 1. táblázatban foglaltunk össze.

1. ábra

Clostridium perfringens NCAIM-B-01417 túlélési görbéje 80 °C, 85 °C, 90 °C, 95 °C-on
(az adatok hat vizsgálat átlagát±szórását jelölik)

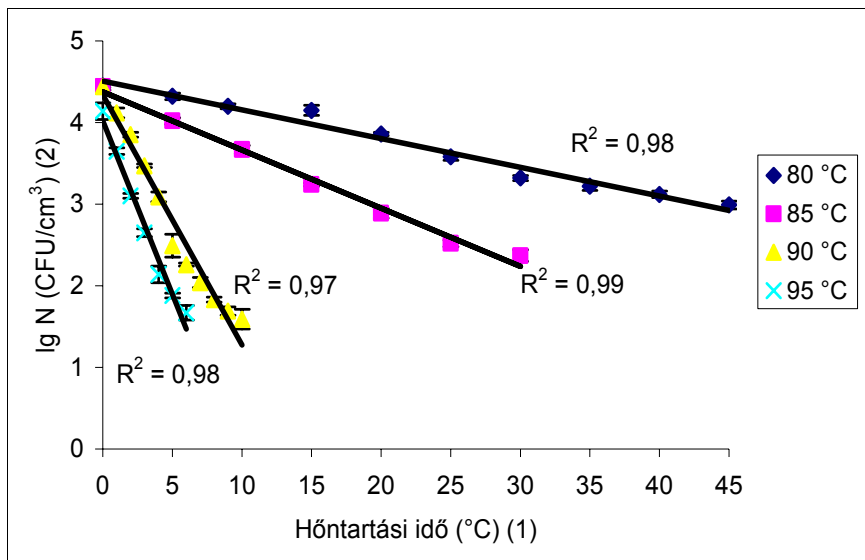


Figure 1: Survival curves of *Clostridium perfringens* NCAIM-B-01417 at 80 °C, 85 °C, 90 °C and 95 °C (Whiskers indicate standard deviations calculated from six observations (two samples, three replicates))

Heating time (min)(1), colony forming unit(2)

1. táblázat

Clostridium perfringens NCAIM-B-01417 tizedelési, lg D és lg t értékei

Hőkezelés hőmérséklete (°C) (1)	Tizedelési idő-D (min) (2)	lg D (3)	lg t (4)
80°C	30,8±0,91	1,49±0,01	2,57±0,01
85°C	14,5±0,34	1,16±0,01	2,24±0,01
90°C	3,5±0,11	0,54±0,01	1,62±0,01
95°C	2,5±0,28	0,39±0,05	1,47±0,05

Table 1: D, lg D and lg t values of *Clostridium perfringens* NCAIM-B-01417

Heating temperature (°C)(1), Decimal reduction time (min)(2), lg D value(3), lg Decimal reduction time (min)+ lg 12 (lg12=12D)(4)

A tizedelési idő (D) a *C. perfringens* NCAIM-B-01417 spórák esetében vizsgálataink szerint 30,8 perc (D_{80}) és 2,5 perc (D_{95}) között alakult. Byrne és munkatársai (2006) ugyanezen fajnál magasabb D-értékeket határoztak meg: 30,6 perc (D_{90}) és 1,9 perc

(D_{100}). Bradshaw és munkatársai (1977) által publikált D -érték 0,5 és 0,95 perc (D_{110}) között alakult marhahúslevesben. Sarker és munkatársai (2000) 124 és 30 perc közötti D_{100} -értékeket mértek levestenyészetben, míg Juneja és munkatársai (2003) 15,5 és 28,1 perc közötti D_{100} -értékeket publikáltak marhahúslevesben.

Abban az esetben, ha a tizedelési idők szórásának szélső (legelőnytelenebb) értékeit alkalmazzuk, akkor a z -értékben $\pm 0,3$ eltérés mutatkozik. Azonban az általunk elvégzett vizsgálatok során a tizedelési idők középértékeit vontuk be számításainkba. A tizedelési idők logaritmusát a hőmérséklet függvényében ábrázolva kaptam a rezisztencia, vagy pusztulási görbét. A gyakorlatban azonban a hőmérséklet függvényében a többségi pusztulási időket szokták ábrázolni, ebben az esetben a többségi pusztulási görbét kapjuk (Deák et al., 1999) (2. ábra).

2. ábra

Clostridium perfringens NCAIM-B-01417 hőrezisztencia és többségi pusztulási görbéje

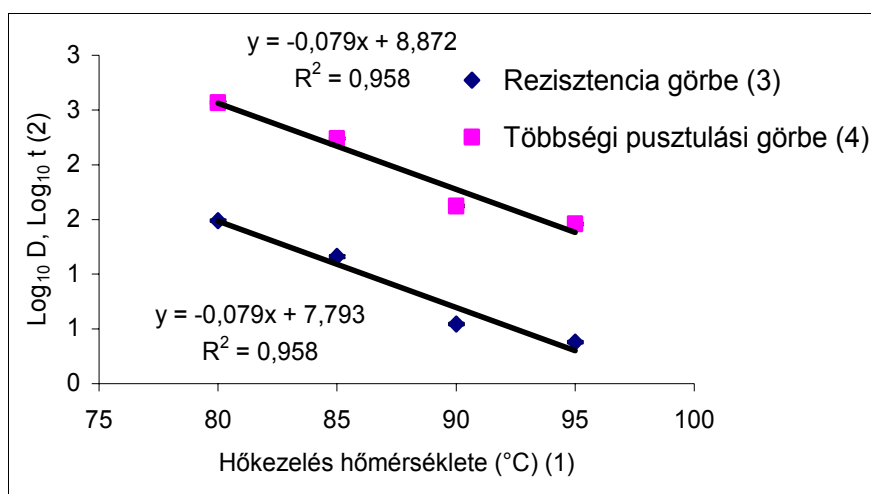


Figure 2: Thermal resistance and death time curves of *Clostridium perfringens* NCAIM-B-01417

Thermal resistance curve(1), Death time curve(2), Heating temperature (°C)(3), lg D value and lg Decimal reduction time (min)+ lg 12 (lg12=12D)(4)

A 2. ábrán látható többségi pusztulási görbére illesztett egyenes meredeksége alapján meghatároztam a z -értéket és a hőmérsékleti együtthatót (Q_{10}). Amint az korábban látható volt a z -érték és a többségi pusztulási görbe között függvényszerű kapcsolat van (2). A számított z -érték *Clostridium perfringens* NCAIM-B-01417 esetében 12,7 °C, Q_{10} értéke pedig 6,1, azaz a hőmérséklet 10 °C-kal való emelése 6,1-szeresére növeli a törzs pusztulási sebességét.

A kiszámított z -értékből meghatároztuk a hőkezelési hőmérsékletekhez tartozó relatív pusztulási sebesség (RPS) és relatív pusztulási idő (RPI). A referencia hőmérsékletnek (T_{ref}) 100 °C-ot választottunk, mivel a félkonzervek maximális

hőmérséklettartománya 90–105 °C. A *Clostridium perfringens* NCAIM-B-01417 relatív pusztulási sebességét (RPS) és relatív pusztulási idejét (RPI) a 2. táblázatban foglaltuk össze.

2. táblázat

Clostridium perfringens NCAIM-B-01417 relatív pusztulási sebessége és ideje

Hőkezelés hőmérséklete (°C) (1)	Relatív pusztulási sebesség (RPS) (2)	Relatív pusztulási idő (RPI) (min) (3)
80 °C	0,027	37
85 °C	0,066	15
90 °C	0,163	6
95 °C	0,404	2,5

Table 2: Relative death rates and times of *Clostridium perfringens*

Heating temperature (°C)(1), Relative death rate (RDR)(2), Relative death time (RDT)(3)

A 2. táblázatból megállapítható, hogy a *Clostridium perfringens* NCAIM-B-01417 esetében 95 °C-on a relatív pusztulási sebesség 0,404, a relatív pusztulási idő 2,5 perc, tehát 95 °C-on a mikrobapusztítás sebessége 0,404-ed része a 100 °C-on mérhetőnek, így ahhoz, hogy azonos mértékű pusztítást érjünk el, mint 100 °C-on 2,5 percet kell hőntartani.

KÖVETKEZTETÉSEK

A kívánatos két nagyságrendnyi spórapusztítás kísérletes igazolásához minimum 10^3 CFU/cm³ spórázó alak volt szükséges. A *Clostridium perfringens* törzs felélesztése után előállított tömény szuszpenzióban azonban nem volt spóra kimutatható, ezért Duncan és Strong (1968) által ajánlott spóráztató táplevesbe helyeztük. Az inkubálás után a tenyészet 10^4 CFU/cm³ spórázott alakot tartalmazott.

Az elvégzett hőkezelési vizsgálatokból megállapítható, hogy *Clostridium perfringens* NCAIM-B-01417 esetében 85 °C-on a 29 percre, míg 95 °C-on 5 percre van szükség a spórák két nagyságrendnyi csökkenéséhez, ezért ennél a törzsnél lehetséges a 85 °C-os hőkezelési hőmérséklet alkalmazása a biztonságos spórapusztítás eléréséhez.

Az elvégzett hőtűrési vizsgálatok eredményeinek tükrében javasolt a *Clostridium perfringens* NCAIM-B-01417 mikrobával befertőzött kacsamáj félkonzervvel is elvégezni a hőtűrési vizsgálatokat. Erre azért van szükség, mert a víziszárnyasok mája olyan összetett mátrixot képvisel, amely lényegesen csökkentheti a hőpenetrációt, valamint védelmet nyújthat a mikrobák számára a hőkezelés során.

IRODALOM

Alföldy, Z., Ivánovics, Gy., Rauss, K. (1963): Orvosi Mikrobiológia. Medicina Egészségügyi Könyvkiadó, Budapest, 348-352.

- Bradshaw, J.G., Peeler, J.T., Twedt, R.M. (1977): Thermal inactivation of ileal loop-reactive *Clostridium perfringens* type A strains in phosphate buffer and beef gravy. *Applied and Environmental Microbiology*. 34. 280-284.
- 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. 803-808.
- Collie, R.E., McClane, B.A. (1998): Evidence that the enterotoxin gene can be episomal in *Clostridium perfringens* isolates associated with non-food-borne human gastrointestinal diseases. *Journal of Clinical Microbiology*. 36. 30-36.
- Deák, T. (1979): Tartósítóiipari technológia. Kertészeti Egyetem, Budapest, 146.
- Deák, T. (2006): Élelmiszer-mikrobiológia. Mezőgazda Kiadó, Budapest, 47-48., 138.
- Deák, T., Lukosovics, F., Reichardt, O., J. Román, M. (1999): Mikrobiológiai gyakorlatok II. Interagent Kiadó és Nyomda Kft, Budapest, 67. 72.
- Duncan, C.L., Strong, D.H. (1968): Improved Medium for sporulation of *Clostridium perfringens*. *Applied Microbiology*. 16. 67-89.
- Farkas, J., Kiss, I., Ormay, L., Takács, J., Vörös, J. (1978): Mikrobiológiai vizsgálati módszerek az élelmiszeriparban 2.
- Hobbs, B.C., Smith, M.E., Oakley, C.L., Warrack, G.H., Cruickshank, J.C. (1953): *Clostridium welchii* food poisoning. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 51. 75.
- Juneja, V.K., Novak, J.S., Huang, L., Eblen, B.S. (2003): Increased thermotolerance of *Clostridium perfringens* spores following sublethal heat shock. *Food Control*. 14. 163-168.
- Kovács, Á. (1997): Az élelmiszertudomány alapjai III. Élelmiszerek mikrobiológiája és mikroökológiája. Pécsi Orvostudományi Egyetem Egészségügyi Főiskolai Kar, Pécs, 48. 199.
- Labbe, R.G., Juneja, V.K. (2002): *Clostridium perfringens* In: *Foodborne Diseases*. Academic Press, Amsterdam.
- McNamara, A., Lattuade, C. (1998): Examination of meat and poultry products for *Clostridium perfringens* USDA/FSIS Microbiology Laboratory Guidebook (3rd ed.). Food Safety and Inspection Services (FSIS). 1-8
- Rodler, I. (2005): Élelmezés- és táplálkozás. Medicina Könyvkiadó, Budapest, 446.
- Sarker, M.R., Shivers, R.P., Sparks, S.G., Juneja, V.K., McClane, B.A. (2000): Comparative experiments to examine the effects of heating on vegetative cells and spores of *Clostridium perfringens* isolates carrying plasmid genes versus chromosomal enterotoxin genes. *Applied and Environmental Microbiology*. 66. 3234-3240.
- Turcsán, J., Varga, L., Turcsán, Zs., Szigeti, J., Farkas, L. (2001): Occurrence of Anaerobic Bacterial, Clostridial, and *Clostridium perfringens* Spores in Raw Goose Livers from a Poultry Processing Plant in Hungary. *Journal of Food Protection*. 64. 8. 1252-1254.
- Wolf, I.D., Lechowich, R.V. (1989): Current issues in microbiological food safety. *Cereal foods World*. 34. 468-472.

Levelezési cím (*Corresponding author*):

Sipos-Kozma Zsófia

Nyugat-Magyarországi Egyetem, Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar
Élelmiszertudományi Intézet

9200 Mosonmagyaróvár, Lucsony u. 15-17.

University of West Hungary, Faculty of Agricultural and Food Science

Institute of Food Science

H-9200 Mosonmagyaróvár, Lucsony u. 15-17.

Tel.: +36-96-566-733, Fax: +36-96-566-653

e-mail: kozmazs@mtk.nyme.hu