

MTA Doktori Értekezés

Varga László
egyetemi tanár

**Nyers tejek és funkcionális savanyú
tejtermékek bakteriológiája, higiéniája**

**Széchenyi István Egyetem
Mezőgazdaság- és Élelmiszer-tudományi Kar
Élelmiszer-tudományi Tanszék**

**Mosonmagyaróvár
2016**

“... we have to be humble and know our level.”

Cristiano Ronaldo dos Santos Aveiro

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS.....	8
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	10
2.1. Az európai “tejforradalom”.....	10
2.2. A tej és a tejtermékek előállításának és fogyasztásának globális helyzete.....	12
2.3. A nyers tehéntej mikrobiológiai–higiéniai minőségének alakulása Magyarországon (1984-2015).....	13
2.4. A termelői nyers tehéntej közvetlen értékesítése és mikrobiológiai–higiéniai minőségének komponensei.....	16
2.5. A nyers tejjel terjedő kórokozó baktériumok.....	18
2.5.1. A <i>Staphylococcus aureus</i> tejhigiéniai jelentősége.....	19
2.5.2. Az <i>Escherichia coli</i> O157:H7 tejhigiéniai jelentősége.....	21
2.6. A tevetej és annak összehasonlítása egyéb állatfajok tejével és az anyatejjel.....	21
2.7. A savanyú tejtermékek.....	22
2.7.1. A joghurt.....	23
2.7.2. A funkcionális (pro-, pre- és szinbiotikus) savanyú tejtermékek.....	23
2.8. A méz.....	25
2.9. <i>Arthrospira platensis</i> (Spirulina).....	26
3. VIZSGÁLATI ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....	28
3.1. Közvetlenül értékesített termelői nyers tehéntej mikrobiológiai–higiéniai minősége.....	28
3.1.1. Általános vizsgálati elvek.....	28
3.1.2. A vizsgálati régió kiválasztása és bemutatása.....	28
3.1.3. A mintavételi pontok kiválasztása.....	28
3.1.4. A vizsgálandó minőségi jellemzők kiválasztásának szempontjai.....	29
3.1.5. Mintavétel.....	30
3.1.6. Mintakonzerválás.....	30
3.1.7. Mintaszállítás és a minták vizsgálata.....	30
3.1.8. Az alkalmazott vizsgálati módszerek.....	31
3.1.9. A vizsgálati eredmények matematikai–statisztikai elemzése.....	31
3.2. Kecsketej mikrobiológiai–higiéniai minőségének alakulása a laktáció során a fejestől a hűtve tárolásig.....	32
3.2.1. A vizsgálatok helyszíne.....	32
3.2.2. Mintavétel.....	32
3.2.3. Laboratóriumi vizsgálatok.....	33
3.2.4. Matematikai–statisztikai értékelés.....	33
3.3. Nyers tehéntejéből izolált <i>Staphylococcus aureus</i> törzsek jellemzése.....	33
3.3.1. A vizsgált tejtermelő gazdaságok.....	33
3.3.2. <i>Staphylococcus aureus</i> izolálása és élősejt-számainak meghatározása.....	33
3.3.3. <i>Staphylococcus aureus</i> törzsek antibiotikum-érzékenységének vizsgálata.....	34
3.3.4. A <i>Staphylococcus</i> enterotoxinokat kódoló gének amplifikációja.....	34

3.3.5.	<i>Staphylococcus aureus</i> törzsek genetikai kapcsolatainak felderítése...	35
3.4.	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 tejből történő kimutatására szolgáló módszerek összehasonlító értékelése és <i>E. coli</i> O157:H7 előfordulása nyers tehéntejben.....	36
3.4.1.	<i>Escherichia coli</i> törzsek.....	36
3.4.2.	Tejek.....	36
3.4.3.	Kimutatási módszerek.....	37
3.4.4.	A módszerek érzékenységének, specifikusságának és pontosságának meghatározása.....	37
3.5.	Teve-, tehén-, kecske- és juhtejből előállított ABT-típusú natúr savanyú tejtermékek hasznos mikrobiotájának hűtve tárolás alatti túlélése.....	38
3.5.1.	Alapanyagtejek.....	38
3.5.2.	Kultúra.....	38
3.5.3.	Termékgyártás és tárolás.....	38
3.5.4.	Mikrobiológiai vizsgálatok.....	39
3.5.4.1.	<i>Streptococcus thermophilus</i> számbeli meghatározása.....	39
3.5.4.2.	<i>Lactobacillus acidophilus</i> La-5 számbeli meghatározása.....	39
3.5.4.3.	<i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis</i> Bb-12 számbeli meghatározása.....	39
3.5.4.4.	Élesztőgomba- és penészgomba-szám meghatározása.....	40
3.5.4.5.	Kóliform- és <i>Escherichia coli</i> -szám meghatározása.....	40
3.5.5.	Matematikai–statisztikai értékelés.....	40
3.6.	Akácmez-kiegészítés hatása a starterbaktériumok életképességének alakulására joghurt hűtve tárolása során.....	41
3.6.1.	Alapanyagtej.....	41
3.6.2.	Méz.....	41
3.6.3.	Starterkultúra.....	41
3.6.4.	Termékgyártás és tárolás.....	41
3.6.5.	Mikrobiológiai vizsgálatok.....	41
3.6.6.	Matematikai–statisztikai értékelés.....	42
3.7.	Teve- és tehéntejből előállított, mézzel kiegészített ABT-típusú savanyú tejtermékek hasznos mikrobiotájának hűtve tárolás alatti túlélése.....	43
3.7.1.	Alapanyagtejek.....	43
3.7.2.	Méz.....	43
3.7.3.	Kultúra.....	43
3.7.4.	Termékgyártás és tárolás.....	43
3.7.5.	Mikrobiológiai vizsgálatok.....	44
3.7.6.	Matematikai–statisztikai értékelés.....	44
3.8.	Oligofruktóz és inulin hatása egy ABT-típusú savanyú tejtermék hasznos mikrobiotájának hűtve tárolás alatti alakulására.....	44
3.8.1.	Alapanyagtej.....	44
3.8.2.	Oligofruktóz és inulin.....	44
3.8.3.	Kultúra.....	45
3.8.4.	Termékgyártás, tárolás és mikrobiológiai vizsgálatok.....	45
3.8.5.	Matematikai–statisztikai értékelés.....	45
3.9.	<i>Arthrospira platensis</i> (Spirulina) biomassza hatása egy ABT-típusú savanyú tejtermék hasznos mikrobiotájának tárolás alatti alakulására.....	45

3.9.1.	Alapanyagtej.....	45
3.9.2.	Kultúra.....	46
3.9.3.	<i>Arthrospira platensis</i> (Spirulina) biomassza.....	46
3.9.4.	Termékgyártás és tárolás.....	46
3.9.5.	Mikrobiológiai vizsgálatok.....	46
3.9.6.	Matematikai–statisztikai értékelés.....	47
3.10.	Spirulinás aludttej kifejlesztése és a Spirulina biomassza hatása a mezofil starterbaktériumokra a savanyú tejtermék hűtve tárolása során.....	47
3.10.1.	A Spirulina biomassza mikrobiológiai állapotának ellenőrzése.....	47
3.10.2.	A mezofil tejsavbaktériumok savtermelésének és sejtszám-változásának nyomon követése modell tejtápközegben.....	47
3.10.3.	Mezofil tejsavbaktériumok és Spirulina biomassza felhasználásával készülő ízesített savanyú tejtermék kifejlesztése.....	48
3.10.4.	Spirulina biomassza hatása a mezofil tejsavbaktériumokra a kifejlesztett savanyú tejtermék hűtve tárolása során.....	48
3.10.5.	Matematikai–statisztikai értékelés.....	49
4.	EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELEÉSÜK.....	50
4.1.	Közvetlenül értékesített termelői nyers tehéntej mikrobiológiai–higiéniai minősége.....	50
4.1.1.	Mintahőmérséklet.....	50
4.1.2.	Savfok.....	51
4.1.3.	pH-érték.....	53
4.1.4.	Összcsíraszám.....	54
4.1.5.	Szomatikus sejtszám.....	55
4.1.6.	Kóliformszám.....	57
4.1.7.	Erjedésgátló tejidegen anyagok.....	58
4.1.8.	Összefüggések vizsgálata.....	58
4.1.8.1.	Mintahőmérséklet és összcsíraszám.....	58
4.1.8.2.	Mintahőmérséklet és kóliformszám.....	59
4.1.8.3.	Mintahőmérséklet és savfok.....	60
4.1.8.4.	Összcsíraszám és kóliformszám.....	60
4.1.8.5.	Összcsíraszám és savfok.....	61
4.2.	Kecske tej mikrobiológiai–higiéniai minőségének alakulása a laktáció során, a fejestől a hűtve tárolásig.....	61
4.2.1.	Szomatikus sejtszám.....	61
4.2.2.	Aerob mezofil mikroorganizmus-szám.....	63
4.2.3.	Kóliform- és <i>Escherichia coli</i> -szám.....	64
4.2.4.	Koaguláz-pozitív <i>Staphylococcus</i> -szám.....	65
4.2.5.	Gátlóanyag-tartalom.....	66
4.2.6.	pH-érték.....	66
4.2.7.	A vizsgálati eredmények összesítése.....	67
4.3.	Nyers tehéntejéből izolált <i>Staphylococcus aureus</i> törzsek jellemzése.....	68
4.3.1.	<i>Staphylococcus aureus</i> izolálása és élősejt-számainak meghatározása.....	68
4.3.2.	<i>Staphylococcus aureus</i> törzsek antibiotikum-érzékenységeinek vizsgálata.....	71
4.3.3.	A <i>Staphylococcus</i> enterotoxinokat kódoló gének amplifikációja.....	71
4.3.4.	<i>Staphylococcus aureus</i> törzsek genetikai kapcsolatainak felderítése...	73

4.4.	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 tejből történő kimutatására szolgáló módszerek összehasonlító értékelése és <i>E. coli</i> O157:H7 előfordulása nyers tehéntejben.....	73
4.4.1.	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 kimutatása a célmikrobával és egy nem kórokozó <i>E. coli</i> törzsszel különböző mennyiségben beoltott modell tejtápközegből.....	73
4.4.2.	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 kimutatása a célmikrobával beoltott, különböző nagyságú természetes háttérflórát (kóliformokat és <i>E. coli</i>) tartalmazó nyers tejekből.....	76
4.4.3.	A módszerek összehasonlítása időszükségletük és bonyolultságuk alapján.....	79
4.4.4.	A módszerek összehasonlítása érzékenység, specifikusság és pontosság alapján.....	79
4.4.5.	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 előfordulása hazai nyers tejekben.....	79
4.5.	Teve-, tehén-, kecske- és juhtejből előállított ABT-típusú natúr savanyú tejtermékek hasznos mikrobiotájának hűtve tárolás alatti túlélése.....	80
4.5.1.	<i>Streptococcus thermophilus</i> élősejt-számának változása probiotikus savanyú tejtermékek hűtve tárolása során.....	80
4.5.2.	<i>Lactobacillus acidophilus</i> La-5 élősejt-számának változása probiotikus savanyú tejtermékek hűtve tárolása során.....	81
4.5.3.	<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> Bb-12 élősejt-számának változása probiotikus savanyú tejtermékek hűtve tárolása során.....	82
4.5.4.	A probiotikus savanyú tejtermékek káros mikrobiotájának vizsgálata...	83
4.6.	Akácmez-kiegészítés hatása a starterbaktériumok életképességének alakulására joghurt hűtve tárolása során.....	83
4.6.1.	<i>Streptococcus thermophilus</i> élősejt-számának hűtve tárolás alatti alakulása natúr és akácmezes joghurtokban.....	83
4.6.2.	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> élősejt-számának hűtve tárolás alatti alakulása natúr és akácmezes joghurtokban.....	84
4.6.3.	Termékazonos baktériumok élősejt-számának és arányának hűtve tárolás alatti alakulása natúr és akácmezes joghurtokban.....	84
4.6.4.	Joghurtok káros mikrobiotájának vizsgálata.....	85
4.7.	Teve- és tehéntejből előállított, mézzel kiegészített ABT-típusú savanyú tejtermékek hasznos mikrobiotájának hűtve tárolás alatti túlélése.....	86
4.7.1.	<i>Streptococcus thermophilus</i> élősejt-számának hűtve tárolás alatti alakulása tevétejből, illetve tehéntejből készített natúr és akácmezes probiotikus savanyú tejtermékekben.....	86
4.7.2.	<i>Lactobacillus acidophilus</i> La-5 élősejt-számának hűtve tárolás alatti alakulása tevétejből, illetve tehéntejből készített natúr és akácmezes probiotikus savanyú tejtermékekben.....	86
4.7.3.	<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> Bb-12 élősejt-számának hűtve tárolás alatti alakulása tevétejből, illetve tehéntejből készített natúr és akácmezes probiotikus savanyú tejtermékekben.....	87
4.7.4.	A probiotikus savanyú tejtermékek káros mikrobiotájának vizsgálata...	88
4.8.	Oligofruktóz és inulin hatása egy ABT-típusú savanyú tejtermék hasznos mikrobiotájának hűtve tárolás alatti alakulására.....	88

4.8.1.	<i>Streptococcus thermophilus</i> élősejt-számának hűtve tárolás alatti alakulása kontroll, illetve oligofruktózzal vagy inulinnal kiegészített tehéntejből készült ABT-típusú savanyú tejtermékekben.....	88
4.8.2.	<i>Lactobacillus acidophilus</i> La-5 élősejt-számának hűtve tárolás alatti alakulása kontroll, illetve oligofruktózzal vagy inulinnal kiegészített tehéntejből készült ABT-típusú savanyú tejtermékekben.....	89
4.8.3.	<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> Bb-12 élősejt-számának hűtve tárolás alatti alakulása kontroll, illetve oligofruktózzal vagy inulinnal kiegészített tehéntejből készült ABT-típusú savanyú tejtermékekben...	90
4.8.4.	A probiotikus savanyú tejtermékek káros mikrobiotájának vizsgálata...	91
4.9.	<i>Arthrospira platensis</i> (Spirulina) biomassza hatása egy ABT-típusú savanyú tejtermék hasznos mikrobiotájának tárolás alatti alakulására.....	91
4.9.1.	Terméktárolás 15°C-on.....	91
4.9.2.	Terméktárolás 4°C-on.....	93
4.10.	Spirulinás aludttej kifejlesztése és a <i>Spirulina</i> biomassza hatása a mezofil starterbaktériumokra a savanyú tejtermék hűtve tárolása során.....	95
4.10.1.	A <i>Spirulina</i> biomassza mikrobiológiai állapota.....	95
4.10.2.	A mezofil tejsavbaktériumok savtermelésének és sejtszám-változásának nyomon követése modell tejtápközegben.....	96
4.10.3.	Mezofil tejsavbaktériumok és <i>Spirulina</i> biomassza felhasználásával készülő ízesített savanyú tejtermék kifejlesztése.....	97
4.10.4.	<i>Spirulina</i> biomassza hatása a mezofil tejsavbaktériumokra a kifejlesztett savanyú tejtermék hűtve tárolása során.....	98
5.	KÖVETKEZTETÉSEK.....	100
5.1.	Nyers tejek higiéniája, bakteriológiája.....	100
5.2.	Funkcionális savanyú tejtermékek bakteriológiája.....	101
6.	ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA.....	102
6.1.	Nyers tejek higiéniája, bakteriológiája.....	102
6.2.	Funkcionális savanyú tejtermékek bakteriológiája.....	103
7.	IRODALOMJEGYZÉK.....	104
8.	AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁT KÉPEZŐ SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE.....	131
	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	133

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS

Az anyatejen kívül nincs még egy olyan, emberi táplálkozás céljára szolgáló természetes élelmi anyag, amely hónapokon keresztül egymagában is biztosítani képes az életben maradás, sőt a gyors növekedés és fejlődés feltételeit. Noha a magyarországi tej- és tejtermék-fogyasztás több mint 99%-ának alapját adó tehéntej elsősorban a borjú számára optimális táplálékforrás, ez a rendkívül értékes, energia- és tápanyagdús folyadék az elmúlt tízezer év során az emberiség alapélelmiszerévé vált.

A tej azonban nemcsak az ember és az emlősállatok táplálékigényének kielégítésére alkalmas, hanem a mikroorganizmusok – kiváltképp a baktériumok – is kitűnő szaporodási feltételeket találnak benne. A nyers tejbe kisebb-nagyobb mennyiségben óhatatlanul bekerülő baktériumok anyagcsere-tevékenységét és szaporodását mielőbb meg kell állítani, majd ezeket a mikrobákat nagyrészt vagy teljesen el is kell pusztítani annak érdekében, hogy a tej eredeti jó minősége megmaradjon és a termék biztonságosan fogyasztható legyen, ne okozzon emberi megbetegedést, vagy halálesetet.

Fontos hangsúlyozni, hogy a mikroorganizmusoknak csak egy jól meghatározható köre jelent élelmiszer-biztonsági kockázatot. Számos olyan mikrobafaj ismeretes ugyanis, amely kifejezetten segíti a tej még értékesebb és biztonságosabb táplálékká alakítását. Ezek között elsősorban Gram-pozitív baktériumokat, pl. tejsavbaktériumokat, bifidobaktériumokat, propionsavbaktériumokat és brevibaktériumokat találunk, de bizonyos tejtermékek jellegzetes mikrobiotájához hasznos élesztő- és penészgombák is hozzátartoznak.

Az elmúlt évtizedek tudományos kutatásai azt is bebizonyították, hogy egyes laktobacillus- és bifidobaktérium-törzsek nem kizárólag, ill. nem elsősorban az érzékszerveinkkel észlelhető terméktulajdonságok (fizikai és kémiai jellemzők) kialakításában működnek közre, hanem akár több szempontból is jótékonyan hatnak a fogyasztó egészségére, hozzájárulva bizonyos civilizációs betegségek megelőzéséhez. E probiotikus baktériumok termékbeli elszaporodása, tárolás alatti túlélése és bélcsatornában (vastagbélben) történő kolonizációja különféle, prebiotikus hatású anyagok alkalmazásával elősegíthető. A pro- és prebiotikus komponenseket is tartalmazó szinbiotikus savanyú tejtermékek a táplálkozás-élettani szempontból nagy értékű funkcionális élelmiszerek közé tartoznak.

A tejgazdasági (tejipari) tárgyú kutatásoknak Mosonmagyaróváron több évszázados hagyományuk és bázisuk van: egyrészt a közel 200 éves Mezőgazdaság- és Élelmiszer-tudományi Karon, másrészt a több mint 110 esztendeje működő Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézetben. Nagy megtiszteltetés számomra, hogy az egyik patinás intézmény keretein belül és a másikkal szorosan együttműködve tevékenykedhettem az elmúlt évtizedekben. Doktori értekezésemben azoknak a kutatásoknak az eredményeiről számolok be, amelyeket munkatársaimmal 2001 és 2014 között végeztünk a nyers tejek káros és a savanyú tejtermékek hasznos mikrobiotájának vizsgálata területén. Főbb céljaim – a disszertációban bemutatásra kerülő tíz témakör sorrendjében – az alábbiak voltak:

1. Közvetlen értékesítési csatornákon keresztül beszerezhető hazai nyers tehéntejek mikrobiológiai–higiéniai minőségének vizsgálata és a minőség alakulásának hátterében meghúzódó okok feltárása.
2. Nyers kecsketej mikrobiológiai–higiéniai minőségének nyomon követése a laktáció során, a tej kifejtésétől annak hűtve tárolásáig.

3. Különböző üzemméretű tehéntejtermelő gazdaságokból gyűjtött nyers tej minták *Staphylococcus aureus* élősejt-számának meghatározása, majd az egyes gazdaságok elegytejéből, ill. a tőgygyulladásos tehenek egyedi, ún. tőgynegyed-tejéből izolált *Staph. aureus* törzsek részletes, feno- és genotípusos jellemzése.
4. Hagyományos, tenyésztési eljárások és egy automatizált immunológiai módszer *Escherichia coli* O157:H7 modell tejtápközegből, ill. nyers tejből történő pontos és hatékony kimutatására való alkalmasságának összehasonlítása, továbbá az enterohaemorrhagiás *E. coli* O157:H7 előfordulási gyakoriságának meghatározása hazai nyers tehéntej-tételekben.
5. Különféle állatfajok (teve, szarvasmarha, juh és kecske) tejéből előállított, *Lactobacillus acidophilus*-t (A), *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*-t (B) és *Streptococcus thermophilus*-t (T) tartalmazó, ún. ABT-típusú savanyú tejtermékek hasznos mikrobiotája hűtve tárolás alatti túlélésének nyomon követése.
6. Annak vizsgálata, hogy az akácméz (*Robinia pseudo-acacia* L.) milyen hatást gyakorol *Strep. thermophilus* és *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* életképességének alakulására joghurtban, a késztermékek hűtve tárolása során.
7. *Lactobacillus acidophilus*, *B. animalis* subsp. *lactis* és *Strep. thermophilus* túlélési arányának vizsgálata tevetejből – illetve összehasonlításképpen tehéntejből – készült, akácmézet tartalmazó ABT-típusú savanyú tejtermékek hűtve tárolása során.
8. Oligofruktóz és inulin ABT-típusú savanyú tejtermékek mikrobiotájának hűtve tárolás alatti alakulására gyakorolt hatásának megállapítása.
9. Annak meghatározása, hogy az *Arthrospira platensis* cianobaktérium faj szárított biomasszája (Spirulina) miként befolyásolja egy ABT-típusú savanyú tejtermék mikrobiotájának tárolás alatti alakulását.
10. A Spirulina biomassza mezofil tejsavbaktériumok (*Lactococcus* és *Leuconostoc* fajok törzsei) savtermelésére és szaporodására gyakorolt hatásának vizsgálata tej tápközegben; ennek alapján egy új típusú funkcionális savanyú tejtermék (spirulinás ízesített aludttej) gyártástechnológiájának kidolgozása; végül pedig annak megállapítása, hogy a Spirulina-kiegészítésnek milyen hatása van a mezofil tejsavbaktérium törzsek életképességére a kifejlesztett savanyú tejtermék hűtve tárolása során.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Az európai “tejforradalom”

Hozzávetőleg 11.700 évvel ezelőtt, a legutóbbi glaciális periódus (“jégkorszak”) elmúltával és az újkőkor (neolitikum) beköszöntével, a Közel-Kelet termékeny félholdnak nevezett részén, valamint Anatóliában a mezőgazdálkodás elkezdte felváltani a középső kőkorszakban (mezolitikum) jellemző vadászó-gyűjtögető életmódot, majd onnét áterjedt a Közép-Keletre, a Kaukázus vidékére, Európába és Afrikába (Leonardi és mtsai, 2012).

Tejfogyasztásra akkor nyílt először lehetőség, amikor megtörtént a juh (*Ovis aries*), a kecske (*Capra hircus*) és a szarvasmarha (*Bos taurus*) ősenek háziasítása a Zagrosz- és a Torosz-hegység közötti területen – valószínűleg az Eufrátesz középső szakaszának völgyében –, a kecske és a juh esetében 11.000, a szarvasmarhánál pedig 10.500 évvel ezelőtt. Egyes kutatók egyenesen azt állítják, hogy a bezoárkecske (*Capra aegagrus*), az ázsiai muflon (*Ovis orientalis*) és az őstulok (*Bos primigenius*) domesztikálásának célja a rendszeres tejfogyasztás lehetőségének megteremtése volt (Vigne és Helmer, 2007; Leonardi és mtsai, 2012).

Mintegy 1500-2000 esztendő elmúltával a háziasított állatfajok már nagy egyedszámban voltak jelen a Közel-Keleten, ill. Anatóliában, ahonnan 8400 évvel ezelőtt áterjedtek Görögországra és a Balkánra. Innen két útvonalon zajlott a további terjedés: egy tengerparti és egy kontinentális úton. Előbbi az Égei-, az Adriai- és a Tirrén-tenger környékét jelentette, utóbbi pedig a Duna vonalát és a Balkánt, egészen Közép-Európáig (Tresset és Vigne, 2007; Leonardi és mtsai, 2012).

Csontokból kinyert mitokondriális DNS minták szekvencia-analíziséből kiderült, hogy Közép-Európa első földművesei – a mai Nyugat-Magyarország és Délnyugat-Szlovákia területén kialakult vonaldíszes kerámia kultúra tagjai – nem a vadászó-gyűjtögető életmódot folytató őslakosok leszármazottai voltak, hanem bevándorlók, akik az újkőkor kezdetén nagy számban érkeztek Közép-Európába a neolitikus kultúra kialakulásának központjához közeli, délnyugat-ázsiai területekről. Ezek a beáramló népcsoportok, legalábbis eleinte, nem keveredtek az őslakosokkal (Bramanti és mtsai, 2009). Hasonlóképpen, a Közel-Keleten háziasított szarvasmarha az első mezőgazdálkodó népcsoportokkal került be Európába. Az ember felügyelete alatt álló, törekeny testfelépítésű szarvasmarhák gulyái élesen elkülönültek az őshonos, vad, robusztus őstulok csoportjaitól, genetikailag nem keveredtek velük, és fokozatosan ki is szorították azokat (Edwards és mtsai, 2007).

A tejelő állatok háziasítását és az agyagedények használatba vételét követően viszonylag rövid időn belül megkezdődött a tej hasznosítása. Több mint kétezer agyagedény-darabon talált tejmaradvány zsírsav-összetételének vizsgálata alapján Evershed és mtsai (2008) megállapították, hogy a mai Törökország észak-nyugati részén, a Márvány-tenger környékén, 8500 évvel ezelőtt már mindennapos volt a tejfogyasztás. Az állati csontok vizsgálata arra is fényt derített, hogy ebben a régióban a szarvasmarha volt a fő tejtermelő állatfaj. Elsősorban kiskérődző-eredetű tejzsír-maradványokat és lipidhőbomlási termékeket tartalmazó, kb. 7500 (±400) éves kerámiaedény-darabok Ecsefalva (Békés megye) és Schela Cladovei (Románia) területéről is előkerültek (Craig és mtsai, 2005).

Túlzás nélkül állítható, hogy a tejtermelő gazdálkodás bevezetése hatalmas innováció volt, mert az értékes állatállomány leölése nélkül, fenntartható módon szolgáltatott élelmet elődeinknek (Bogucki, 1984; Salque és mtsai, 2013). Az

évszaktól függetlenül rendelkezésre álló tej biztos táplálékforrást jelentett a tejcukrot emésztteni képes egyének számára, nagyfokú védelmet nyújtva a növénytermesztés szezonális és az időjárás kiszámíthatatlansága folytán időszakosan kialakuló élelmiszerhiánnyal szemben (Shennan és mtsai, 2013; Gerbault és mtsai, 2013). Észak felé haladva egyre nőtt a tej szerepe az éhínség elleni védekezésben és még az eltarthatósága is meghosszabbodott (Curry, 2013).

Miközben tehát egyes kora újkőkori népcsoportok tejtermelő tevékenységet folytattak, laktáz enzim hiányában nem tudták kellemetlen következmények (felfúvódás, hasi görcsök, hasmenés) nélkül elfogyasztani a tejet. Hamarosan rájöttek azonban, hogy ebből a problémákat okozó, ámde értékes alapanyagból könnyebben emészthető élelmiszereket (sajtot, joghurtot, vaját és egyéb, csökkentett laktóztartalmú tejtermékeket) lehet előállítani, amelyek ráadásul jobban tárolhatóak és szállíthatóak, mint a romlékony tej (Leonardi és mtsai, 2012).

A sajtgyártásra utaló legrégebbi leletek a mai Lengyelország északi-középső részén található Kujávia területéről kerültek elő (Salque és mtsai, 2013). Ezek olyan, 2-3 mm átmérőjű lyukakkal sűrűn ellátott, kb. 7100 (± 300) éves agyagedénydarabok, amelyekről a rajtuk lévő zsírsavak összetételének elemzése alapján bebizonyosodott, hogy szűrőként szolgáltak a sajtalvadék és a savó elválasztására. A cserépdarabok a kelet-európai vonaldíszes kerámia kultúra idejéből és elterjedési területéről származnak. Az azonos időszakból előkerült állati csontok elemzése arra is fényt derített, hogy a tejtermelő állatfajok között a szarvasmarha dominált (68-80%), míg a kiskérődzőknek (13-18%) lényegesen szerényebb szerep jutott az állattenyésztésben és a tejtermelésben (Salque és mtsai, 2013).

A tejtermelés és a tejfeldolgozás gyakorlata tehát még akkor alakult ki, amikor a felnőttkori tejcukorbontó képesség, az ún. laktázperzisztencia előfordulási gyakorisága elenyésző (gyakorlatilag nulla) volt.

Az elmúlt másfél évtizedben vált egyértelművé, hogy a laktázperzisztencia az európaiak körében szoros összefüggésben áll egy, a laktázgén feletti szabályozó régióban létrejövő, báziscsere típusú, -13.910 C/T elnevezésű polimorfizmussal, melynek C allélja a laktázaktivitás gátlását, T allélja pedig annak perzisztálását okozza (Enattah és mtsai, 2002). A -13.910 T allél pozitív természetes szelekciója kb. 7500 (± 1200) évvel ezelőtt kezdődött a Balkán északi részén és Közép-Európában (Itan és mtsai, 2009), valószínűsíthetően a már említett vonaldíszes kerámia kultúra kialakulásával és kezdeti terjedésével párhuzamosan (Leonardi és mtsai, 2012). A közép-európai eredetű -13.910 T allél mellett további három, laktázperzisztenciáért felelős polimorfizmus (-14.010 G/C, -13.915 T/G, -13.907 C/G) létre derült fény kelet-afrikai állattenyésztő népekben (Tishkoff és mtsai, 2006). Ezek evolúciója az európai alléléhoz hasonlóan, de attól függetlenül valósult meg az elmúlt 3-7 ezer évben (Check, 2007; Itan és mtsai, 2010).

Bebizonyosodott, hogy a tejhez való hozzáférés olyan erős pozitív természetes szelekciós nyomást gyakorolt a laktázgénre, ami szinte példa nélküli az emberiség genetikájának történetében (Holden és Mace, 1997; Copley és mtsai, 2003; Bersaglieri és mtsai, 2004; Craig és mtsai, 2005; Vigne és Helmer, 2007; Evershed és mtsai, 2008; Greenfield, 2010; Leonardi és mtsai, 2012). Bersaglieri és mtsai (2004) számítása szerint a laktázperzisztenciát biztosító allél jelenlétéből fakadó szelekciós előny elérhette akár a 15-19%-ot is, azaz pl. Skandináviában a -13.910 T allélt hordozó egyének csaknem 20%-kal életképesebb és termékenyebb utódokat hozhattak létre, mint a laktózbontó képességgel nem rendelkezők. Ha egy ilyen mértékű előny több száz generáción keresztül érvényesülni tudott, könnyen

hozzásegíthette a kiinduló populációt akár egy egész kontinens birtokba vételéhez is (Curry, 2013).

A laktázperzisztencia biológiai evolúciója és a tejtermelés, ill. a tejfeldolgozás kulturális evolúciója évezredekken keresztül egymással szoros kölcsönhatásban zajlott, ugyanis a laktózbontó képesség csak akkor jelentett szelekciós előnyt, ha állandóan rendelkezésre állt a friss tej, másik oldalról pedig a tejgazdálkodásból sokkal nagyobb hasznot húztak a laktázperzisztens egyének, mint a laktóztoleránsok (Itan és mtsai, 2009; Leonardi és mtsai, 2012). Ezt az ún. gén-kultúra koevolúciós folyamatot nagyban segítette a kiskérődzők jelentőségének csökkenésével és a szarvasmarha-tartás fontosságának növekedésével járó, északnyugati irányú demográfiai terjeszkedés, melynek hatására Közép-, ill. Észak-Európában tehén- és kisebb részben kecsketejre alapozott, fejlett gazdaságú közösségek alakultak ki 6500 évvel ezelőtt (Itan és mtsai, 2009).

Az előzőekben vázolt évezredes folyamatok eredőjeként, Európában meglehetősen elterjedt a laktázperzisztencia, amely azonban jóval gyakrabban fordul elő az észak-európai népekben ($> 90\%$), mint a közép- ($\approx 60\%$), ill. dél-európaiakban ($< 40\%$). Ez arra utal, hogy a laktázgénre irányuló szelekciós nyomás Európa benépesítését követően kezdett érvényesülni. Másképpen fogalmazva: a -13.910 C/T polimorfizmus csak azután jött létre Közép-Európában, hogy az újkőkori mezőgazdálkodó népcsoportok egyik ága már letelepedett a kontinens déli régióiban (Bersaglieri és mtsai, 2004). Ami a globális helyzetet illeti, a világ jelenlegi felnőtt lakosságának csupán egyharmada laktázperzisztens (Itan és mtsai, 2010), de az adatok területi eloszlása nagy egyenlőtlenségeket mutat, mert összefüggésben áll a tejgazdálkodásnak az egyes népcsoportok életében a történelem során betöltött szerepével (Simoons, 1969; Kretchmer, 1971; Scrimshaw és Murray, 1988; Bersaglieri és mtsai, 2004). A magyar felnőtt lakosság körében 61-63% a laktázperzisztens egyének aránya (Czeizel és mtsai, 1983; Nagy és mtsai, 2009; Nagy, 2012).

Az elmondottakból kitűnik, hogy a tej jelentősége jóval nagyobb annál, mint ami a táplálkozásban jelenleg betöltött szerepéből következik, mert a tejtermelés és a tejfogyasztás óriási, Curry (2013) szóhasználatával élve "forradalmi" szerepet játszott az elmúlt 5-10 ezer év során az európai népek evolúciójában, genetikai összetételük alakulásában. Nem elképzelhetetlen, hogy Európa jelenlegi lakosainak nagy része az első laktázperzisztens tejtermelők leszármazottja.

2.2. A tej és a tejtermékek előállításának és fogyasztásának globális helyzete

A világ tejtermelő országainak többségét tömörítő, 1903-ban alapított Nemzetközi Tejgazdasági Szövetség (International Dairy Federation) éves rendszerességgel megjelenteti a tejtermelés, ill. a tejfeldolgozás, továbbá a tejtermék-fogyasztás és -kereskedelem globális alakulását részletesen elemző kiadványát. E sorok írásakor a 2014. év történéseit bemutató, 2015 őszén napvilágot látott publikáció (IDF, 2015) áll rendelkezésre legfrissebb forrásként, így az ebben szereplő adatokra alapozom értekezésem jelen alfejezetét.

A világon megtermelt összes tejmenyiség 2014-ben 802 millió tonna (mt) volt. Ennek több mint négyötödét (663 mt) a tehéntej tette ki, de jelentős volt a bivalytej (106 mt), a kecsketej (18,8 mt) és a juhtej (10,1 mt) volumene is. A tehéntej-termelés 3,3%-kal – azon belül az EU-é 4,0%-kal, az USA-é pedig 2,4%-kal – nőtt az előző

évihez képest. 2016-ra kb. 830 mt tej termelése prognosztizálható, és valószínűnek tűnik, hogy az 1000 mt-s lélektani határt 2025 körül érjük majd el.

Tejtermék-gyártás terén az EU vezeti a világranglistát, itt történik ugyanis a világon feldolgozott minden harmadik liter tej tejtermékké alakítása. A hőkezelt és csomagolt folyadéktej termelésének volumene 2014-ben világszinten 0,7%-kal nőtt, miközben az EU-ban és az USA-ban egyaránt csökkent (1,2%-kal, ill. 3,0%-kal). Összességében hasonló tendencia érvényesült a savanyú tejtermékek piacán is, de míg az EU-ban 2,4%-os visszaesés jelentkezett, addig az USA-ban 0,9%-os növekedés volt megfigyelhető, jelezve e termékcsoporthoz töretlen népszerűségét az észak-amerikai fogyasztók körében. A világ sajtermelése (ömlesztett sajtok nélkül) 2014-ben mintegy 22 mt volt, melynek 90%-a tehéntejből készült. E területen is az EU (46%) és az USA (26%) volt a piacvezető, 1,9%-os, ill. 2,8%-os éves növekedési ütemet produkálva.

A fogyasztásról szólva elmondható, hogy a 2014-ben megtermelt 802 mt tejen 7,2 milliárd földlakó osztozott, közel sem egyenlő mértékben. Az egy főre jutó, átlagosan 111 kg-os tej- és tejtermék-fogyasztás – amely egyébként 1,7%-os növekedést jelentett a 2013. évihez képest – (szub)kontinensekre lebontva nagy szórást mutatott: Afrikában az 50 kg-ot sem érte el és Ázsiában is csak 75-80 kg körül alakult, Európában (271 kg), Észak-Amerikában (264 kg), ill. Óceániában (227 kg) viszont jóval meghaladta a világlátlagot.

Ami hazánkat illeti, 2014-ben 1,85 mt tehéntejet állítottunk elő. Ez a globális tejtermelésnek alig több mint 0,2%-a. Az iparilag feldolgozott tej aránya 79%-ot tett ki. Az egy főre jutó átlagos folyadéktej-fogyasztásunk 48,3 kg volt, emellett 11,6 kg sajtot és 1,2 kg vaját is megevett 2014-ben a magyar átlagfogyasztó (IDF, 2015).

Kiskérődző állományunk tejtermelésének összvolumene kb. három nagyságrenddel kisebb, mint tehénállományunké. A 2014-ben megtermelt mintegy 3-7 millió liter kecsketejből csupán 620.000 l képződött a "fehér" gazdaságban (Kukovics, 2015), a juhtejtermelés szintje pedig még ezt sem érte el (Monori, 2015).

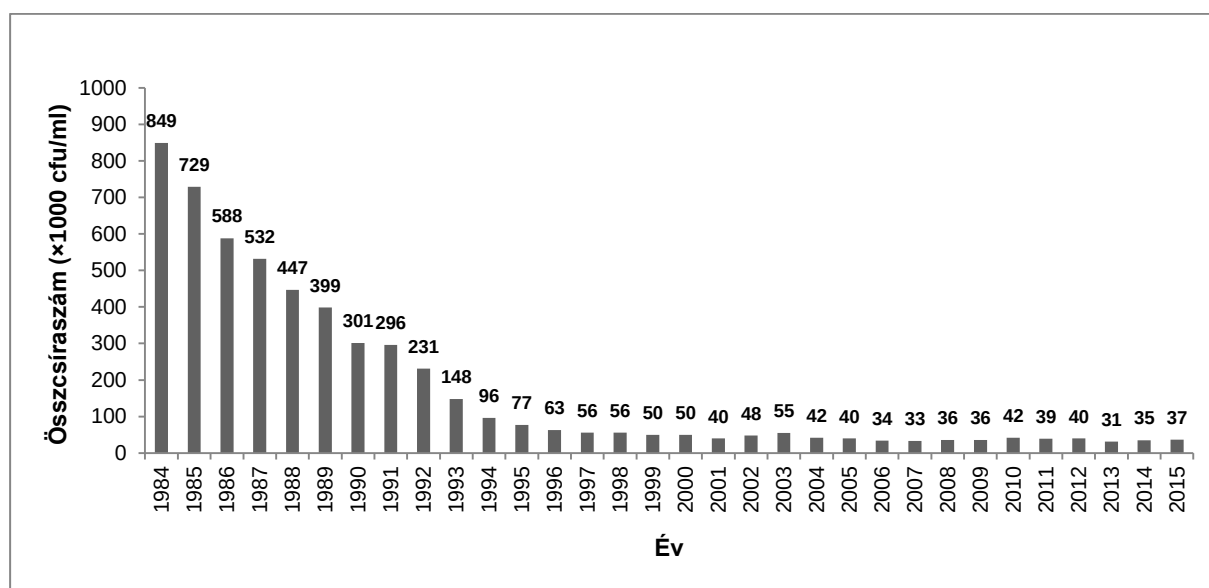
2.3. A nyers tehéntej mikrobiológiai–higiéniai minőségének alakulása Magyarországon (1984-2015)

A nyers tej komplex minőségét fizikokémiai tulajdonságai, részben ezekből eredő táplálkozás-élettani és élvezeti értéke, valamint higiéniai–mikrobiológiai jellemzői együttesen határozzák meg. A nyers tej minősítése során, optimális esetben, mindezeket a paramétereket rendszeresen értékeljük és az értékítéletet a tej felvásárlási árban kifejezésre juttatjuk, ezáltal ösztönözve a tejtermelőket a minőség folyamatos javítására. A higiéniai–mikrobiológiai jellemzők minőségének elsősorban élelmiszer-biztonsági (közegészségügyi) aspektusból van jelentősége. Ugyanakkor a termékminőség szempontjából is fontos, hogy a szomatikus sejtszámra, az összcsíraszámra és az erjedésgátló tejidegen anyagok mennyiségére vonatkozóan felső határértéket állapítsunk meg (Unger, 2001; Unger és Császár, 2009).

A fejlett tejgazdasággal rendelkező országok addigra már két évtizedes példáját követve, 1984. január 1-jén vette kezdetét Magyarországon a nyers tej minőségjavítását célzó, árkonzekvenciával járó, korszerű és rendszeres minősítő tevékenység (Unger, 2001). A követelmények fokozatos szigorítása és a mind nagyobb árösztönzés eredményeként érdemlegesen javult a nyers tej minősége az elmúlt több mint 30 évben. Ez idő alatt számos előadás hangzott el (Császár és

mtsai, 2011, 2013; Császár, 2016), több könyvfejezet és tudományos folyóiratcikk született (Unger, 2001; Unger és Császár, 2003, 2009), sőt doktori értekezés is készült (Unger, 1996) a hazai nyers tej minősítési rendszer létrejöttének körülményeiről, fejlesztésének szempontjairól és a nyers tej komplex minőségének számottevő javulásáról. Minthogy ezek a munkák jórészt közismertek és hozzáférhetőek, ehelyütt csupán nyers tehéntejeink mikrobiológiai–higiéniai jellemzőinek elmúlt évtizedekbeli alakulását tekintem át, az idézett művek alapján, egészen 2015-ig bezárólag.

A tej összcsíraszámának 1984 és 2015 közötti alakulásáról a **2.1. ábra** nyújt áttekintést. Látható, hogy a minősítési rendszer bevezetésekor 1 ml nyers tej még átlagosan közel 850.000 db szaporodóképes mikrobaset tartalmazott. Ez a mai szemmel nézve elfogadhatatlanul nagy érték aztán meredek csökkenésnek indult, mígnem a nyers tej minősítés első szakaszának (1984-1989) végén már a 400.000 cfu/ml-t sem érte el. Ekkor lehetségessé – és egyben szükségessé is – vált a követelményrendszer szigorítása, ill. bővítése, amelyre 1991-ben került sor az ún. Nyers Tej Szabvány hatályba léptetésével. Ennek extra- és I. osztályú kategóriája már érvényesítette az Európai Gazdasági Közösség aktuális elvárásait (Unger, 2001; Unger és Császár, 2009). A nyers tej összcsíraszám a továbbiakban is folyamatosan csökkent, és az új évezredben jellemző 30-50 ezer cfu/ml értékkel végül elérte az EU átlagát, nagy biztonsággal teljesítve a hatályos előírást (≤ 100.000 cfu/ml).

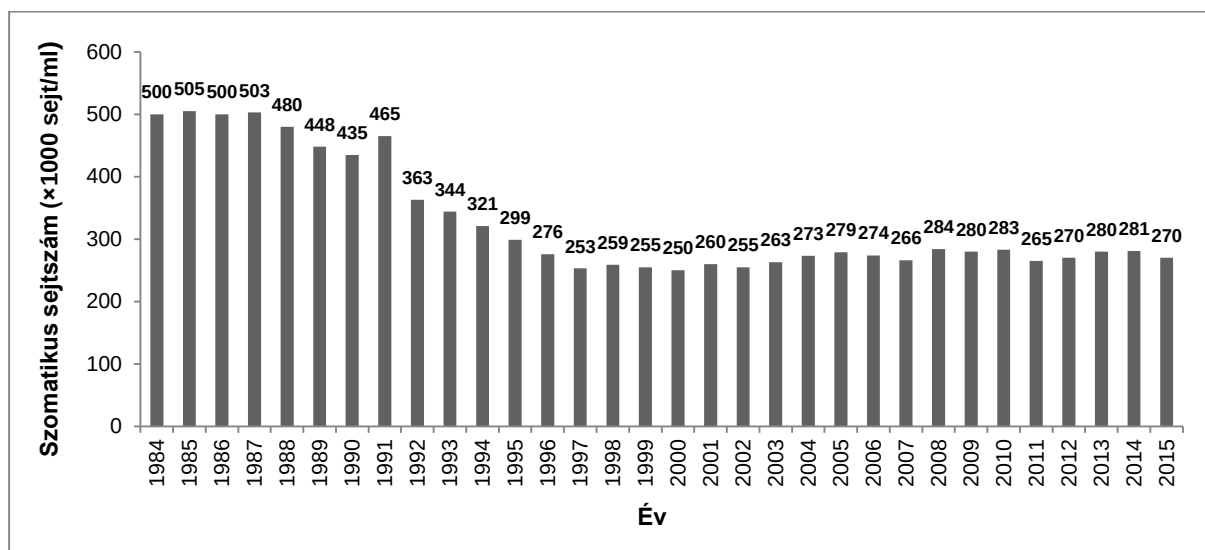


2.1. ábra: A nyers tehéntej összcsíraszám-átlagának alakulása Magyarországon 1984 és 2015 között

[Adatok forrása: Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet, Mosonmagyaróvár–Budapest]

A **2.2. ábra** adatai jól mutatják, hogy a nyers tehéntej szomatikus sejtszáma a rendszer működésének első szakaszában gyakorlatilag nem változott. Az 1991. évi 465.000 sejt/ml érték – az árkonzekvencia érvényesítésének hatására – azután 5 év alatt 40%-kal csökkent. Az ezt követő, egészen máig tartó, 20 éves időszakban azonban további javulás már nem következett be, a szomatikus sejtszám ezen a szinten (250.000-280.000 sejt/ml) stabilizálódott. A 2015. évi 270.000 sejt/ml átlagérték európai összehasonlításban meglehetősen nagynak számít, mert az EU tagállamainak többségében ennél kb. 100.000 sejt/ml-rel kisebb szomatikus sejtszámok jellemzőek. Az elmondottakból egyértelműen következik, hogy a nyers

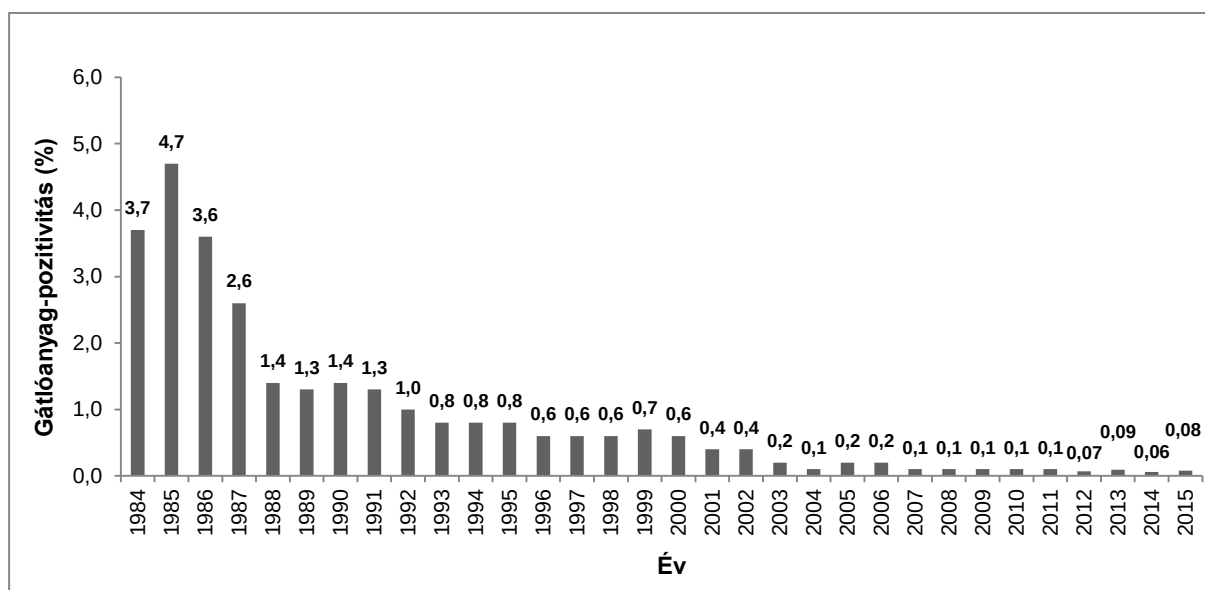
tehéntej jövőbeli minőségjavításának fő súlypontját a szomatikus sejtszámra kell helyezni (Unger és Császár, 2009).



2.2. ábra: A nyers tehéntej szomatikus sejtszám-átlagának alakulása Magyarországon 1984 és 2015 között

[Adatok forrása: Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet, Mosonmagyaróvár–Budapest]

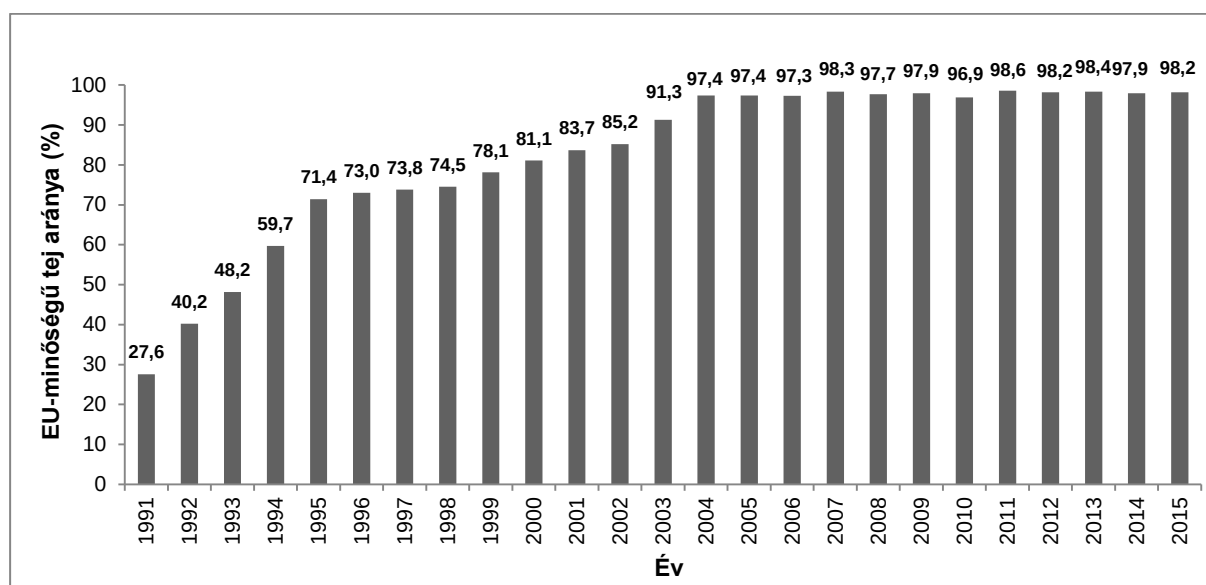
A gátlóanyagot tartalmazó nyers tej tételek aránya a minősítés bevezetésének első három évében rendkívül magas volt (3,6-4,7%), utána azonban csökkenő tendenciát mutatott, és az első szakasz végéig (1989) kb. harmadára, 1,3%-ra esett vissza (**2.3. ábra**). A XX. század utolsó évtizedében a javulás üteme némileg megtorpant. Ez különösen szembetűnő volt az 1993 és 2000 közötti időszakban (Unger és Császár, 2009). 2003-tól kezdődően ismét érdemi javulás volt megfigyelhető, 2007 óta pedig kivétel nélkül 0,1%-os vagy az alatti tejidegen gátlóanyag-pozitivitásról tanúskodnak az eredmények.



2.3. ábra: A gátlóanyag-pozitív nyers tehéntej arányának alakulása Magyarországon 1984 és 2015 között

[Adatok forrása: Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet, Mosonmagyaróvár–Budapest]

Nyers tej minősítési rendszerünk továbbfejlesztésben az 1990-es évek elejétől kezdődően egyre hangsúlyosabban érvényesült az EU-konformitás szándéka. Az 1991-ben bevezetett Nyers Tej Szabvány a legjobb minőségű, ún. extra tejre vonatkozó követelményeket a 92/46/EEC számú európai irányelv (Council of the European Communities, 1992) előírásaihoz igazodva jelölte ki. Az EU (ill. az EGK) kívánalmait teljesítő nyers tej arányának 1991 és 2015 közötti változását a **2.4. ábra** illusztrálja. 1991-ben a felvásárolt tej alig több mint egynegyede felelt meg az európai normáknak. Az arány 1995-ig dinamikusan, több mint 2,5-szeresére nőtt, az utána következő 7-8 évben viszont már csak mérsékeltabb volt a javulás üteme. Öröndetes, hogy uniós csatlakozásunk óta stabilan 97-98% körüli a kifogástalan minőségű hazai nyers tehéntej tételek részaránya.



2.4. ábra: Az Európai Unió (1993-ig: Európai Gazdasági Közösség) mindenkori követelményeinek megfelelő nyers tehéntej arányának alakulása Magyarországon 1984 és 2015 között

[Adatok forrása: Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet, Mosonmagyaróvár–Budapest]

2.4. A termelői nyers tehéntej közvetlen értékesítése és mikrobiológiai-higiéniai minőségének komponensei

A termelői nyers tehéntej közvetlen értékesítése Magyarországon több csatornán keresztül valósul meg. A háznál történő eladás, a piaci árusítás és a gazdaságból közvetlenül a fejest követően, a gyakran még "tőgyemeleg" nyers tej értékesítése régóta alkalmazott gyakorlatok. Emellett mozgó értékesítés formájában tartálykocsiból, élelmiszerboltokból, nyers tej automatákból és átvételi pontokon is beszerezhető termelői nyers tej Magyarországon.

A közvetlen értékesítés nem gazdálkodási formához kötött tevékenység, hanem értékesítési filozófia, ill. gyakorlat, amely üzemmérettől függetlenül művelhető. A közvetlen értékesítést végző termelők egy része az 52/2010. (IV. 30.) FVM rendelet (a továbbiakban "kistermelői rendelet") hatálya alá esik (FVM, 2010). A kistermelői rendelet által érintett gazdálkodók számára kötelezően előírt és vizsgálandó minőségi paraméterek jóval kevésbé szigorúak a nyers tej minősítés hatálya alá eső termelők által teljesítendő követelményeknél.

A közvetlen értékesítés az eladott termék jellegétől függően különféle gyakorlati tartalmakat hordozhat magában, így a fogalom-meghatározás még az agráriumon belül sem egységes. Mezőgazdasági termékek esetében Kneafsey és mtsai (2013) definíciója adja meg a közvetlen értékesítés általános megfogalmazását: *“A szóban forgó élelmiszer azonosítható, és a termelőig nyomon követhető. A termelő és a fogyasztó közti közvetítők száma ‘minimális’, ideális esetben nulla.”* Hasonlóan fogalmaz a Tanács egységes, közös piacszervezésről szóló 1234/2007/EK rendelete 65. cikkének g) pontja, amely szerint *“a közvetlen értékesítés a tejnek a termelő által közvetlenül a fogyasztók részére történő értékesítése vagy átadása”* (Council of the European Union, 2007).

A közvetlenül értékesített nyers tej egyaránt származhat minősített és nem minősített forrásból, de az értékesítés műveleti elemeiből eredő kockázati tényezők miatt a termelőhelyen fennálló “eredeti” minőség egyik esetben sem ismert. A fogyasztók így szinte kizárólag az érzékszervi jellemzők alapján ítélik meg a megvásárolt nyers tej tétel minőségét. Ez különösen a nyers tej minősítés keretein belül nem vizsgált tételek esetében bír jelentőséggel, az értéktételben pedig fontos szerep jut a savfokkal és a pH-értékkel jellemzett savasságnak, valamint a nemkívánatos mikrobatevékenységből származó bomlástermékeknek. Az említett tényezők által előidézett illat-, íz-, vagy állománybeli változásokat már kismértékű eltérés esetén is jól érzékelik a fogyasztók.

A tej legkönnyebben megváltoztatható minőségi jellemzője a hőmérséklet, amelyet az értékesítő személyzet közvetlenül képes befolyásolni. A tárolási hőmérséklet a nyers tej közvetlen értékesítésében a zsírfázis elkülönülése, valamint a mikroorganizmusok aktivitása, laktózigényes flóra esetében a tejcukorbontás, ill. a savképződés szempontjából bír jelentőséggel. Unger (2001) szerint a zsírgolyók homogén fázisból történő elkülönülése időhöz kötött, és annak gyorsaságában fontos szerepet játszik a tej hőmérséklete és kora. A hőmérséklet növelése (bizonyos határig) a viszkozitás csökkentése révén gyorsítja az elkülönülést. A hűtés a tejkezelés egyik legfontosabb művelete, a pszichrotróf baktériumok azonban 4°C alatti hőmérsékleten is képesek szaporodni, ezért a tej hűtés előtti mikrobaszáma és mikrobiota-összetétele alapvetően behatárolja az eltarthatóság idejét. Sachdeva és mtsainak (2001) vizsgálatai szerint 4-6°C tárolási hőmérsékleten a nyers tej eltarthatósága 4 nap. Az élvezhetőség határát tapasztalataik szerint nem a savanyodás, hanem elsősorban a pszichrotróf mikrobák zsír- és fehérjebontó enzimeit előidézett tisztátalan íz szabja meg.

Az összcsíraszám maximálisan megengedhető értékére vonatkozóan a felvásárolt tejtételek esetében a 16/2008. (II. 15.) FVM-SZMM együttes rendelet (FVM-SZMM, 2008), míg a kistermelői élelmiszer-termelés keretében termelt és értékesített tételek esetében a kistermelői rendelet (FVM, 2010) előírásai az irányadóak. A két említett rendelet azonos vizsgálati gyakoriságot és határértéket ír elő a mikrobaszámra, amely 2 hónapos időszak mozgó mértani átlaga alapján, havonta legalább két mintán vizsgálva, nem haladhatja meg a milliliterenkénti 100.000-et. A kistermelői rendelet azonban nem fogalmaz egyértelműen a mintavétel helyét illetően, így az illetékes hatóság döntésén múlik, hogy a mintát a termelőhelyen, vagy az értékesítés helyén veszik-e a vizsgált tejtételből. A tejjel érintkező felületek szempontjából ez lényeges kérdés, mert a felvásárolt tejek termelőhelyen vett mintáihoz képest a közvetlen értékesítési pontokon gyűjtött minták lényegesen több felülettel érintkeznek. A megnövekedett kontaktfelület egyben több potenciális szennyező forrást is jelent, ami eleve nagyobb mikroorganizmus-számot eredményez. A mezofil mikrobák szaporodási minimum-

hőmérséklete (8°C) az ágazati jogalkotásban is megjelenik a megengedett legnagyobb hűtési hőmérsékleti értékek és a hozzájuk tartozó tárolási idők megállapításával (kistermelői rendelet 4. melléklet/II/3. pont).

Dohoo és Meek (1982) szerint a nyers tej szomatikus sejtszámát 250-300 ezer sejt/ml szinten javasolt megállapítani a tőgygyulladásos tőgynegyedek, ill. tehének azonosítására. A közvetlen értékesítésben lényeges érzékszervi tulajdonságok tőgyegészségügyi vonatkozásait több szerző is feldolgozta. Kitchen (1981), valamint Munro és mtsai (1984) a tőgygyulladásos tej érzékszervi tulajdonságainak nemkívánatos változásairól írtak. A kedvezőtlen érzékszervi jellemzők az ilyen nyers tejből készült termékekben, pl. pasztörözött tejben is megjelennek. Barbano és mtsai (2006) a fehérje- és zsírbontás következményeként keserű és avas mellékíz megjelenéséről számoltak be.

A kóliformok jelenlétéből és számából a tejnyerés és a tejkezelés higiéniai hiányosságaira, súlyosabb esetekben direkt fekális eredetű fertőzésre következtethetünk. Perkins és mtsai (2009) a környezeti szennyező források közül a tejházi technológiai víz *Escherichia coli*- és kóliform-fertőzöttsége, valamint a gyűjtött elegytej minősége között szoros kapcsolatot mutattak ki. E mikrobák száma a gyűjtött elegytejben – a hűtlánc fenntartása és az előírt hűtési paraméterek betartása mellett – a kezdeti fertőzés mértékétől is függött. Pantoja és mtsai (2011) a gyűjtött nyers elegytej kóliformszámát befolyásoló faktorokat vizsgálva több tényező együttes hatására hívták fel a figyelmet. Ezek közül a fejőgép nem megfelelő tisztítása már a gyűjtőtartályt megelőző áramlási szakaszban jelentős hatást gyakorolt a tej kóliformszámára. Az itt mért kóliformszám jelentősen nagyobb volt tisztítási problémák előfordulásakor (115 cfu/ml), mint szabályszerűen elvégzett higiénés műveletek esetén (26 cfu/ml).

Az erjedésgátló tejidegen anyagok (gyógyszer-maradványok) jelenléte közvetlenül értékesített tejtételekben ugyanúgy nemkívánatos, mint felvásárolt tejek esetében. Felderítésükre a kistermelői réteg által folytatott közvetlen értékesítésben – a törvényi szabályozás és a kialakult ellenőrzési gyakorlat miatt – jelentősen kisebb az esély, mint a nyers tej minősítés keretében vizsgált tejmintáknál. Amint arra az előző alfejezetben már utaltam, Magyarországon a gátlóanyag-pozitivitással érintett, gyűjtött és minősített tej mennyisége az 1985-ben mért értékhez (4,7%) képest folyamatosan csökken. 1990-ben már „csak” 1,4%-ot tett ki, 2000-re pedig még tovább csökkent (0,6%-ra), és jelenleg 0,1% alatt van. Összehasonlításképpen, ez az érték Nyugat-Európa néhány, nagy tejtermelési kultúrával rendelkező államában sem kedvezőbb: pl. Belgiumban, 2006-ban, szintén 0,1% körül alakult (Nikolić és mtsai, 2011).

2.5. A nyers tejjel terjedő kórokozó baktériumok

Noha összetétele és egyéb tulajdonságai folytán a tej közel optimális feltételeket nyújt a mikrobák élettevékenységéhez, az egészséges állattól higiénikusan nyert tej milliliterenként csak maximum néhány ezer mikroorganizmust tartalmaz. A nyers tejbe bejutó mikroszervezetek többsége szaprofita élőlény. Ezek jellemzően semmiféle veszélyt nem jelentenek a tej minőségére és a fogyasztó egészségére, sőt adott esetben akár hasznosak is lehetnek, pl. a kórokozók szaporodásának gátlása révén. A környezetből a tejbe bekerülő, romlást okozó mikrobák anyagcsere-aktivitásuk során idézik elő a tej tápanyagainak lebomlását, a táplálkozás-élettani érték ezzel összefüggő csökkenését és a szükségképpen

kialakuló érzékszervi hibákat. Kis részarányban ugyan, de annál súlyosabb következményeket okozva, az ember megbetegedését kiváltó patogén mikroorganizmusok is jelen lehetnek a nyers tejben.

A nyers tej kétféleképpen szennyeződhet, ill. fertőződhet kórokozókkal. Elsődleges fertőződés során a betegségokozó mikrobák az állat szervezetéből választódnak ki a tejjel. Zoonotikus baktériumok jellemzően már egyáltalán nem (pl. *Brucella* spp., *Mycobacterium* spp.), vagy csak viszonylag ritkán (pl. *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp.) fordulnak elő a hazai tejelő állatállományokban és nyers tejekben. A tőgygyulladást kiváltó patogének az esetek döntő többségében nem zoonotikus ágensek, fontos kivételt jelentenek viszont ez alól egyes *Streptococcus* fajok, a *Staphylococcus aureus* és az enterohaemorrhagiás *Escherichia coli* törzsek. A nyers tej másodlagos kontaminációjának hátterében mindig valamiféle környezeti szennyeződés áll, leggyakrabban a fejési higiénia szabályainak megsértése miatti fekális szennyeződés. Ily módon jelentős számú zoonotikus kórokozó juthat a tejbe. A humán eredetű patogének szintén másodlagosan, a fejés és a tejkezelés során szennyezik a nyers tejet (Lacay, 2008b).

A nyers tej fogyasztása következtében kialakuló élelmiszer-fertőzések és -mérgezések zömét baktériumok okozzák (EFSA, 2015; EFSA és ECDC, 2015). Az e tekintetben potenciális veszélyt jelentő Gram-negatív baktériumok közül a *Campylobacter* spp. (*C. jejuni*, *C. coli*), a *Salmonella* spp. (*S. Typhi*, *S. Paratyphi* A, B, C), a *Shigella* spp., a *Yersinia* spp. (*Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis*), a *Brucella* spp. (*B. abortus*, *B. melitensis*) és a *Leptospira* spp., továbbá az enterohaemorrhagiás *E. coli* törzsek és a *Coxiella burnetii* említhetők meg. A hasonló okból elméleti vagy gyakorlati relevanciával bíró főbb Gram-pozitív baktériumok köre az alábbi: *Staph. aureus*, *L. monocytogenes*, *Mycobacterium* spp. (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. avium* subsp. *paratuberculosis*), *Bacillus cereus*, *Corynebacterium* spp., *Strep. equi* subsp. *zooepidemicus* (Lacay, 2008b; Griffiths, 2010; Stessl és Hein, 2010; Villalobo, 2011; Wang és mtsai, 2013; EFSA, 2015; Foddai és Grant, 2015; Lacay és mtsai, 2016).

Minthogy vizsgálataim a felsorolt baktérium csoportok (nemzetségek, fajok, ill. törzsek) közül a Gram-pozitív *Staph. aureus*-ra és a Gram-negatív enterohaemorrhagiás *E. coli*-ra terjedtek ki, jelen alfejezet további részében e két baktériumot jellemzem a terjedelmi korlátok adta lehetőségeknek megfelelően.

2.5.1. A *Staphylococcus aureus* tejhigiéniai jelentősége

A *Staph. aureus* a tejhasznosítású kérődzők egyik legelterjedtebb és legnagyobb gazdasági veszteséget előidéző kórokozója, mely a tőgygyulladásos esetek mintegy 30-40%-áért felelős (Akineden és mtsai, 2001; Katsuda és mtsai, 2005; Asperger és Zangerl, 2011; Jin és Yamada, 2016). A *Staph. aureus* közvetlenül is kiválasztódhat a tejbe szubklinikai, ill. klinikai mastitis által érintett tőgynegyedekből (primer infekció), de bekerülhet oda a környezetből is, nem megfelelő higiéniai színvonalú fejési és tejkezelési gyakorlat következtében (szekunder kontamináció). Fertőzött tőgyből a tejjel rendkívül változó számban ($0-10^8$ cfu/ml) választódik ki (Asperger és Zangerl, 2003; Scherrer és mtsai, 2004; Jørgensen és mtsai, 2005b; Lacay, 2008b).

Az EU-ban immár negyed évszázada és hazánkban is közel másfél évtizede rendeletileg szabályozott a hőkezelés nélkül készülő tejalapú termékek alapanyagául felhasználandó nyers tehéntej *Staph. aureus* szennyezettségének megengedhető

mértéke. A megfelelőség határértékeként ismert m-érték $5,0 \times 10^2$ cfu/ml ($2,7 \log_{10}$ cfu/ml), a visszautasítás határértéke (M-érték) pedig $2,0 \times 10^3$ cfu/ml ($3,3 \log_{10}$ cfu/ml) (Council of the European Communities, 1992; FVM-ESZCSM, 2003).

Az élelmiszer-eredetű megbetegedések közegészségügyi jelentősége rendkívül nagy (Kadariya és mtsai, 2014). Az Amerikai Egyesült Államokban évente mintegy 6-80 millió megbetegedés és akár 9000 haláleset történik élelmiszer-fertőzés vagy -mérgezés miatt. Becslések szerint mindez legalább 5 milliárd USD költségvonzattal jár (Balaban és Rasooly, 2000). Statisztikai adatok szerint, a bejelentett élelmiszer-eredetű megbetegedések egyik legjelentősebb okozója világszerte a *Staph. aureus* (Normanno és mtsai, 2005; Boerema és mtsai, 2006; Asperger és Zangerl, 2011). Élelmiszerekben való előfordulása és szaporodása azért jelent potenciális közegészségügyi veszélyt, mert törzseinek jelentős része enterotoxinok (SE) termelésére képes, melyek a fogyasztó szervezetébe jutva ételmérgezést okozhatnak (Akineden és mtsai, 2001; Boerema és mtsai, 2006). A sztafilokokkuszok által kiváltott ételmérgező esetek hátterében gyakorta tej- és tejtermék-fogyasztás áll. E tekintetben különösen nagy kockázatot jelent a nyers tej fogyasztása (De Buyser és mtsai, 2001). A *Staphylococcus*-enterotoxinok 26-29,6 kDa molekulatömegű, jelentős hőreizisztenciájú ($D_{121^\circ\text{C}} = 3-8$ perc), egyláncú exoproteinek (Balaban és Rasooly, 2000; Normanno és mtsai, 2005; Asperger és Zangerl, 2011). Nagy hőellenállásuk miatt akkor is jelen lehetnek az élelmiszerekben, amikor a *Staph. aureus* sejtek már elpusztultak (Le Loir és mtsai, 2003; Jørgensen és mtsai, 2005b; Cavicchioli és mtsai, 2015).

Öt klasszikus SE-típus [SEA, SEB, SEC (C1-C3), SED, SEE] már régebb óta ismert, az utóbbi években azonban további tizenhét, új típusú SE, ill. SE-szerű (SEI) toxin (SEG, SEH, SEI, SEIJ, SEK, SEL, SEM, SEN, SEO, SEP, SEQ, SER, SES, SET, SEIU, SEIV, SEIW, SEIX) létezéséről derült fény, sőt az ezek termelődéséért felelős gének azonosítására is sor került (Letertre és mtsai, 2003; Omoe és mtsai, 2004; Jørgensen és mtsai, 2005a; Bania és mtsai, 2006; Boerema és mtsai, 2006; Hata és mtsai, 2006; Pinchuk és mtsai, 2010; Cheng és mtsai, 2016; Jin és Yamada, 2016). A *Staph. aureus* termelhet egy további, az SE-ktől eltérő hatású és szerkezetű, de szintén az ún. pirogén toxikus szuperantigének közé tartozó mérgező fehérjét is, a toxikus sokk szindróma kiváltásáért felelős TSST-1 toxint, amely emberre és állatokra egyaránt veszélyt jelent (Akineden és mtsai, 2001; Spanu és mtsai, 2012; Jin és Yamada, 2016).

A *Staph. aureus* törzsek jellemzésére, ill. azonosítására számos módszer létezik (Hata és mtsai, 2006). A fenotípusos vizsgálaton alapuló eljárásokat az utóbbi időben felváltották a molekuláris diagnosztikai és identifikálási módszerek. A polimeráz láncreakció (PCR) széles körben elterjedt az enterotoxikus törzsek azonosítására (Kwon és mtsai, 2004; Asperger and Zangerl, 2011; Jagielski és mtsai, 2014; Rajic-Savic és mtsai, 2015; Rola és mtsai, 2015a; Pexara és mtsai, 2016). Noha a PCR alapú eljárás lehetővé teszi az SE-gének jelenlétének gyors és megbízható kimutatását, a toxintermelés mértékére vonatkozóan nem ad információt (Boerema és mtsai, 2006). A *Staph. aureus* genotipizálása számos módszerrel elvégezhető, ezek közül a pulzáló gélelektroforézis (PFGE) az egyik legelterjedtebb, mert megbízható és viszonylag jól reprodukálható eredményeket szolgáltat (Weller, 2000; Foster, 2011; Wang és mtsai, 2014).

2.5.2. Az *Escherichia coli* O157:H7 tejhigiéniai jelentősége

Az *E. coli* O157:H7 az élelmiszerekkel, köztük a tejjel terjedő egyik legvirulensebb kórokozó baktérium. Fertőző dózisa < 100 sejt (Montville és Matthews, 2008). A vékonybélben szaporodik el, majd képez verocitotoxint, ami vérzéses bélgyulladásban és hemolitikus urémiás szindrómaként (HUS) ismert veseelégtelenségben nyilvánul meg (Riley és mtsai, 1983; Martin és mtsai, 1986; Madigan és mtsai, 2003; Fegan és Desmarchelier, 2010; Desmarchelier és Fegan, 2011; Nagy és mtsai, 2015). A verocitotoxint Shiga toxinnak is nevezik, mivel a toxintermelésért felelős gén feltételezhetően a shigellákból került át az *E. coli* törzsekbe (Laczay, 2008a). Az *E. coli* O157:H7 csak az Amerikai Egyesült Államokban évente több mint 60.000 esetben okoz élelmiszer-mérgezést és 50 fogyasztó haláláért felelős (Madigan és mtsai, 2003). Epidemiológiai vizsgálatok eredménye szerint a tejhasznú szarvasmarhák az *E. coli* O157:H7 elsődleges hordozói, és a kórokozó emberre történő átvitelében a bélsárral szennyezett tejnek kiemelt szerepe van (Martin és mtsai, 1986; Borczyk és mtsai, 1987; Zschock és mtsai, 1998; Hussein és Sakuma, 2005; Montville és Matthews, 2008; Rola és Osek, 2015; Nobili és mtsai, 2016). Ezt támasztják alá az elmúlt évtizedek nyers tej fogyasztáshoz köthető *E. coli* O157:H7 járványai is (Martin és mtsai, 1986; Keene és mtsai, 1997; Erickson és Doyle, 2007; Oliver és mtsai, 2009; Desmarchelier és Fegan, 2011; Onishchenko és mtsai, 2015).

2.6. A tevetej és annak összehasonlítása egyéb állatfajok tejével és az anyatejjel

A világ számos részén nem a szarvasmarha az elsőszámú, ill. legperspektivikusabb tejtermelő állatfaj (IDF, 2015), így pl. Afrika és Ázsia száraz, sivatagos régióiban dinamikusan nő a tevetartás és -tenyésztés, valamint ebből adódóan a tevetej-termelés gazdasági jelentősége (El-Salam, 2011). Tekintettel arra, hogy a doktori értekezésem "gerincét" adó tíz kutatási téma közül kettőben is felhasználtunk tevetejet, és mivel a tevetej kevésbé ismert a hazai szakmai közönség előtt, mint a tehéntej, valamint a kiskérődzők teje, szükségesnek tartom önálló alfejezetben áttekinteni a releváns tudnivalókat. Ugyanakkor megjegyzem, hogy a tevetej jelentőségét, összetételét és egészségre gyakorolt jótékony hatásait nemrég kétrészes, 133 irodalmi hivatkozásra alapozott szemleciikkben ismertettük (Fábi és mtsai, 2014a,b), ezért ehelyütt csak a legfontosabb információkról teszek említést.

A különböző állatfajoktól származó tejek és az anyatej fizikokémiai tulajdonságait szemléltető **2.1. táblázat**ból kitűnik, hogy a tevetej és a tehéntej beltartalmi jellemzőinek átlagértékei nagyon hasonlóak, energiatartalom és sűrűség tekintetében pedig a tevetej és az anyatej áll közel egymáshoz. Az ásványi anyagok, ill. a szárazanyag koncentrációjáról szólva, a tevetej a tehéntejhez és a kecsketejhez hasonló átlagértékekkel jellemezhető. A juhtej szinte az összes fizikokémiai paraméter tekintetében felülmúlja a tevet, a tehén és a kecske tejét.

2.1. táblázat: Különféle fajok tejének fizikokémiai tulajdonságai (El-Agamy és mtsai, 1998; El-Agamy, 2006; Konuspayeva és mtsai, 2009; Fábri és mtsai, 2014b)

Paraméter	Tevetej*	Tehéntej	Juhtej	Kecsquetej	Anyatej
Víztartalom (%)	87,59	87,75	82,95	87,88	88,66
Szárazanyag-tartalom (%)	12,41	12,25	17,05	12,12	11,34
Zsírtartalom (%)	3,83	3,60	5,95	4,15	2,80
Zsírimentes szárazanyag-tartalom (%)	8,58	8,65	11,10	7,97	8,54
Fehérjetartalom (%)	3,33	3,24	5,25	3,02	1,97
Savófehérje-tartalom (%)	0,93	0,73	1,19	0,70	1,26
Kazeintartalom (%)	2,40	2,51	4,06	2,32	0,71
Savófehérje–kazein arány	0,36	0,29	0,29	0,30	1,77
Laktóztartalom (%)	4,46	4,65	4,91	4,21	6,30
Ásványianyag-tartalom (%)	0,79	0,76	0,94	0,74	0,27
pH	6,55	6,68	6,79	6,70	6,90
Sűrűség (g/cm ³)	1,029	1,032	1,037	1,031	1,029
Energiatartalom (kJ/l)	2793	2944	4406	3028	2600

* Egypúpú tevé (*Camelus dromedarius*) teje

Az egyes fajok teje közötti különbségek nem elsősorban a makrokomponensek koncentrációiban mutatkoznak, hanem az alkotórészek ún. finomösszetételében. A tevétej például nem tartalmaz allergiát okozó β -laktoglobulint (El-Agamy, 2000; Kappeler és mtsai, 2003; Laleye és mtsai, 2008; Fukuda, 2013), e tekintetben tehát hasonlatos az anyatejhez, és jelentősen különbözik a kérődző állatok tejétől. Ugyanakkor, a tevétejben – csakúgy, mint az anyatejben – az α -laktalbumin a legfontosabb savófehérje. A tevétej laktoferrin-koncentrációja nem kiemelkedően nagy, azonban rendkívül hatékony bizonyos patogén mikrobák ellen (Conesa és mtsai, 2008).

A tevétej bővelkedik közepes és hosszú szénláncú zsírsavakban, rövid szénláncú zsírsav-készlete ellenben szegényesnek mondható a tehén-, a juh- és a kecsquetejéhez képest. Stahl és mtsai (2006) beszámolója szerint a telítetlen és a telített zsírsavak egymáshoz viszonyított aránya hasonló a tevétejben és a tehéntejben, El-Agamy (2009) tapasztalatai viszont ennek ellentmondanak.

A tevétej az összes makroelemet nagyobb mennyiségben tartalmazza, mint az anyatej, és nátrium-koncentrációja a többi állatfaj tejéét is felülmúlja. Kalcium-, foszfor- és magnézium-tartalma leginkább a tehén-, ill. a kecsquetejéhez hasonló. A tevétej jó vasforrásnak számít (Fukuda, 2013).

A tevétej B₂-, B₅-, B₉- és D-vitamin készlete szegényes, C-vitamin tartalma viszont jelentős. Ez utóbbi megállapítás különösen igaz az egypúpú tevék tejére, amely akár tízszer annyit is tartalmazhat ebből a vízzoldható vitaminfélésekből, mint a tehéntej (Konuspayeva és mtsai, 2010).

Az alapanyagtejek összetételi (beltartalmi) különbözősége befolyásolhatja a belőlük készülő savanyú tejtermékekben a tejsavbaktériumok és a bifidobaktériumok szaporodási, ill. savtermelési aktivitását, valamint termékbeli túlélését (Pulay és Krász, 1980; Varga és mtsai, 2014).

2.7. A savanyú tejtermékek

A Magyar Élelmiszerkönyv meghatározása szerint a savanyú tejtermékek megfelelően előkészített és hőkezelt, pontosan definiált anyagokból speciális mikroorganizmus-tenyészetek hozzáadásával, savanyítás és alvasztás útján készülnek. Tíz százalék alatti zsírtartalom esetén savanyú tejelekről, 10% vagy afeletti zsírtartalom esetén savanyú tejszínekről beszélünk. Megkülönböztetünk élőflórás natúr savanyú tej(szín)eket, ízesített savanyú tej(szín)készítményeket, továbbá nem

élőflórás ízesített savanyú tej(szín)készítményeket (Magyar Élelmiszerkönyv Bizottság, 2004). A savanyú tejtermékek emellett még csoportosíthatók a kultúraalkotó mikrobák hőmérsékletigénye (mezofil, termofil), kombinációi (csak tejsavbaktériumok, tejsavbaktériumok és élesztőgombák, tejsavbaktériumok és penészgombák), ill. egyéb, tetszőleges szempontok szerint is (Tamime és Robinson, 2007a; Mayo és mtsai, 2010; Surono és Hosono, 2011).

2.7.1. A joghurt

A jellemzően tehéntejből készülő joghurt világszerte az egyik legismertebb és legkedveltebb savanyú tejtermék (McKinley, 2005; Tamime és Robinson, 2007a; Mayo és mtsai, 2010; Robinson, 2011a). A savanyítás során kialakuló gélszerkezet a tejfehérjék koagulációjának eredménye. A fermentációs folyamatban a *Streptococcus thermophilus* és a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (*Lb. bulgaricus*) játszik központi szerepet (Rašić és Kurmann, 1978; Deeth és Tamime, 1981; Gurr, 1987; Robinson, 2011a). E két tejsavbaktérium faj kölcsönösen segíti egymás élettevékenységét (szaporodását, savtermelését, fehérjebontó aktivitását, stb.) tej tápközegben (Scherer, 1995; Ginovart és mtsai, 2002; Robinson, 2011b). Szakmai konszenzus van azt illetően, hogy a joghurtnak minőség-megőrzési időtartama alatt kellő számú ($\geq 10^7$ cfu/g) életképes starterbaktériumot kell tartalmaznia, és ez a követelmény egy ideje már meg is jelenik a fejlett tejgazdasággal rendelkező országok élelmiszerjogi szabályozásában (Rašić és Kurmann, 1978; Gläser, 1992; Magyar Élelmiszerkönyv Bizottság, 2004; Tamime és Robinson, 2007c). Fontos paraméter a két starterkomponens egymáshoz viszonyított aránya is a késztermékben, melynek optimális esetben 1:1 körülinek kell lennie (Robinson, 2011b).

2.7.2. A funkcionális (pro-, pre- és szinbiotikus) savanyú tejtermékek

A tejsavbaktériumokat nagy mennyiségben tartalmazó savanyú tejtermékek rendszeres fogyasztásának bizonyos egészségügyi jótéteményei már több mint egy évszázada ismertek (Metchnikoff, 1907). A klasszikus joghurtbaktériumok azonban nem tagjai a természetes, hasznos humán bélmikrobiotának, ezért nem rendelkeznek ún. probiotikus tulajdonsággal. A probiotikumok olyan mikroorganizmusok, jellemzően bifidobaktériumok, ill. laktobacilluszok, amelyeket ha a táplálékkal elfogyasztunk, bizonyos számban képesek túlélni a gyomron és a vékonybélben való áthaladást, majd a vastagbélben elszaporodva előnyös élettani hatást fejtenek ki (Parker, 1974; Fuller, 1989; Salminen és mtsai, 1998; Schrezenmeir és De Vrese, 2001; Saarela és mtsai, 2002). A probiotikus savanyú tejtermékek előállításához használt bifidobaktérium törzsek túlnyomórészt hét fajból (*B. bifidum*, *B. longum*, *B. lactis*, *B. infantis*, *B. breve*, *B. adolescentis*, *B. animalis*) kerülnek ki, a laktobacilluszok között pedig ott találjuk a *Lb. acidophilus*, a *Lb. casei*, a *Lb. paracasei*, a *Lb. reuteri*, a *Lb. rhamnosus*, a *Lb. gasseri* és a *Lb. johnsonii* törzseit (Pulay, 1972; Varga, 2001; Szakály, 2004; Sendra és mtsai, 2016). Potenciális jótéteményeik közül az alábbiak érdemelnek említést (Lin és mtsai, 1991; Saavedra és mtsai, 1994; Agerbaek és mtsai, 1995; Schiffrin és mtsai, 1995; Varga, 1999; Saarela és mtsai, 2002; Möller és De Vrese, 2004; Leahy és mtsai, 2005; Flambard és Johansen, 2007; Myllyluoma és mtsai, 2007; Tamime és Robinson, 2007b; Kailasapathy és Champagne, 2011; Takano és Yamamoto, 2011; Chenoll és mtsai, 2016; Tamang és mtsai, 2016):

- β -galaktozidáz termelésük révén csökkentik a laktóztolerancia előfordulásának gyakoriságát és mérséklék a tünetek súlyosságát;
- csökkentik a vérszérum plazmakoleszterin-szintjét, valamint a vérnyomást;
- fontos szerepük van a – pl. rotavírusok által okozott – hasmenéses bántalmak megelőzésében, ill. kezelésében;
- meggátolják a székrekedés kialakulását;
- antibiotikum-kúrát követően elősegítik a bélmikrobiota egyensúlyának helyreállítását;
- megkönnyíthetik a gyulladásos eredetű bélbántalmak kezelését;
- megnövelik a szervezet mikobás fertőzésekkel szembeni ellenálló-képességét és
- szerepet tulajdonítanak nekik egyes rákfajták megelőzésében.

Hangsúlyozni kell azonban, hogy a pozitív hatások jelentős mértékben függnak a probiotikus baktériumok bélcsatornában mérhető élősejt-számától (Leahy és mtsai, 2005; Ghoddusi és Hassan, 2011). Jóllehet a humán-egészségügyi jótétemények kifejtéséhez minimálisan szükséges sejtkoncentrációt illetően nincs egyetértés a szakemberek között (Farnworth, 2008), a kutatók többsége úgy gondolja, hogy ehhez legalább 10^6 db probiotikus élősejtnak jelen kell lennie a termék minden egyes grammjában, ill. milliliterében (Sanders és Huis in't Veld, 1999; Shah, 2000; Kailasapathy és Champagne, 2011; Kechagia és mtsai, 2013). A Magyar Élelmiszerkönyv is grammonként minimum 10^6 db élő probiotikus mikroba jelenlétét követeli meg a probiotikus savanyú tejtermékektől a minőség-megőrzési idő lejártáig (Magyar Élelmiszerkönyv Bizottság, 2004).

A probiotikus és a nem probiotikus baktériumokat általában együtt alkalmazzák a savanyú tejtermékek gyártásakor. A nem probiotikus joghurtbaktériumokra leginkább azért van szükség, mert gyorsabb és nagyobb mennyiségű savtermelésük révén kedvező hatást gyakorolnak a késztermék állományára, emellett az általuk képzett aromaanyagok (acetaldehid, diacetil, acetoin stb.) javítják a probiotikus "joghurtok" érzékszervi jellemzőit (Varga, 2001; Tharmaraj és Shah, 2003; Ashraf és Shah, 2011; Routray és Mishra, 2011).

A prebiotikumok a probiotikumok táplálékai (Gibson és Roberfroid, 1995). Legismertebbek közülük a diétás rostként funkcionáló oligo- és poliszacharidok, pl. az oligofruktóz vagy az inulin (Gibson és mtsai, 1995; Niness, 1999; Zalán és mtsai, 2011; Csapó és mtsai, 2014). Rendkívül széles körben elterjedtek a természetben, ugyanis több (tíz)ezer növényfajban megtalálhatók. Összetételükre nézve fruktánok, tehát β -(2,1) kötésekkel összekapcsolódó fruktóz molekulákból épülnek fel (Kailasapathy, 2011a). Oligofruktóz esetében jellemzően 2-7 db, inulin esetében 3-60 db fruktóz molekula alkot lineáris láncot, melyet mindig egy glükóz molekula zár le. Jelentőségük abban rejlik, hogy az emésztőcsatorna felső szakaszában egyáltalán nem hidrolizálódnak, csak a vastagbélben bomlanak le monoszacharid építőegységeikre. Szelektíven hatnak a bélmikrobiotára, lehetővé téve, hogy egyfelől a vastagbélbe jutott bifidobaktériumok ott nagy arányban elszaporodjanak, másfelől a káros bélbaktériumok számbelileg visszaszoruljanak. A prebiotikumok tehát olyan élelmiszerek, ill. élelmiszer-kiegészítők, amelyek elősegítik a kedvező összetételű bélmikrobiota kialakulását. Az inulin és az oligofruktóz emellett még javítja a szervezetbe kerülő egyes ásványi anyagok, pl. a kalcium felszívódásának hatékonyságát is, fontos szerepet betöltve a csontritkulás megelőzésében (Scholz-Ahrens és mtsai, 2007; De Vrese és Schrezenmeir, 2008; Griffin és Abrams, 2008; Kailasapathy, 2011a; Sako és Tanaka, 2011).

Szinbiotikumokról akkor beszélünk, ha a pro- és prebiotikumokat egymással kombinálva alkalmazzuk, és így az előzőekben leírt kedvező hatások szinergista módon jelentkeznek (Gibson és Roberfroid, 1995; Schrezenmeir és De Vrese, 2001). A szinbiotikus élelmi anyagokat a funkcionális élelmiszerek közé soroljuk. A funkcionális élelmiszerek a fő tápanyagok mellett valamilyen olyan komponenst is tartalmaznak megfelelő mennyiségben, amely biológiai aktivitása révén kimutathatóan kedvező fiziológiai hatást fejt ki, ill. szerepe van bizonyos civilizációs betegségek (pl. elhízás, diabétesz, szív- és érrendszeri problémák, különböző daganatos megbetegedések) megelőzésében. A szinbiotikus savanyú tejtermékek világszerte vezető gyártmányok a funkcionális élelmiszerek között (Varga, 2001; Saarela és mtsai, 2002; Szakály, 2004; Ouwehand és mtsai, 2007; Fenyvessy és mtsai, 2008; Kailasapathy, 2011b; Mohammadi és Mortazavian, 2011; Pandey és mtsai, 2015; Shah és mtsai, 2016).

2.8. A méz

A tejipar hagyományosan kristályos répa-, vagy nádcukrot, ill. kukoricából készült folyékony invertcukrot alkalmaz termékeiben édesítőanyagként (Szakály, 2001), az utóbbi években azonban mind inkább nő az érdeklődés a természetes eredetű adalékanyagok, közülük is elsősorban az egészségmegőrző, betegségmegelőző tulajdonságokkal rendelkező élelmiszer-összetevők felhasználása iránt (Chick és mtsai, 2001; Ustunol és Gandhi, 2001). Manapság már számos élelmiszernél jön szóba egészséges és természetes édesítőszerként a méz (LaGrange és mtsai, 1991; Bogdanov, 2009, 2011). A méztartalmú élelmiszereket az egészségtudatos fogyasztók különösen értékesnek tartják, és akár 10-15%-kal többet is hajlandók fizetni ezekért, mint az egyéb édesítőanyagok felhasználásával gyártott konkurens termékekért (Chick és mtsai, 2001; Ustunol és Gandhi, 2001).

A méz legnagyobb részben fruktózból (38,4%) és glükózból (30,3%) áll. További összetevői a maltóz (7,2%), a szacharóz (1,3%) és különböző oligoszacharidok (4,2%) (Chick és mtsai, 2001; Ustunol és Gandhi, 2001; Kajiwarra és mtsai, 2002). A víztartalma átlagosan 17,1%. Ettől, ill. a hőmérséklettől, a botanikai eredettől és számos más tényezőtől függően a méz vízaktivitása 0,5-0,6. A felsoroltakon túl tartalmaz még aminosavakat ($\leq 0,1\%$) és szerves savakat (0,6%), melyek kialakítják 3,4 és 6,1 közötti (átlagosan 3,9-es) pH-értékét (Chick és mtsai, 2001; Ustunol és Gandhi, 2001; Kajiwarra és mtsai, 2002). Savas kémhatása miatt a méz ízben jól harmonizál sokféle élelmiszerral, és ráadásul képes az oldatok savanyú ízhatását csökkenteni, így növelheti a kis pH-értékű élelmiszerek fogyasztói kedveltségét. Mindezek ellenére az utóbbi évekig csak viszonylag ritkán használtak mézet joghurtok ízesítésére (Brown és Kosikowski, 1970; Sert és mtsai, 2011; Perna és mtsai, 2014; Glušac és mtsai, 2015). Ennek egyik oka vélhetően a tejsavbaktériumokra gyakorolt gátló hatása (Čurda és Plocková, 1995; Roumyan és mtsai, 1996).

Antimikrobás tulajdonságai miatt azonban a méz a termékromlást okozó (szennyező) és a kórokozó mikroorganizmusok egy részének szaporodását, ill. élettevékenységét is gátolja (Süle, 2016), ezért általában mindössze néhány féle mikrobát tartalmaz, azokat is csak kis mennyiségben, így hosszú minőség-megőrzési idő jellemzi (Snowdon és Cliver, 1996; Mundo és mtsai, 2004). Az esetlegesen problémát okozó mikroorganizmus fajok az endospóras baktériumok, valamint az élesztő- és penészgombák közül kerülnek ki (Snowdon és Cliver, 1996). A legfőbb

veszélyt a fakultatív ozmofil élesztők jelentik a méz eltarthatóságára, vegetatív baktériumok – különösen patogének – viszont alig fordulnak elő benne (Snowdon és Cliver, 1996). A méz mikrobaellenes hatásáért felelős tényezőket még nem sikerült teljesen felderíteni (Taormina és mtsai, 2001), de ezek között minden kétséget kizáróan szerepel a vízaktivitást jelentős mértékben csökkentő nagy cukortartalom, a savas kémhatás, továbbá különféle szerves savak és fenolos vegyületek, a metilglioxál és a hidrogén-peroxid jelenléte (White és mtsai, 1963; Dustmann, 1979; Weston és mtsai, 1999; Mundo és mtsai, 2004; Mavric és mtsai, 2008; Atrott és Henle, 2009). Említést érdemel az is, hogy botanikai eredetüktől függően jelentősen különbözhetnek a mézek antimikrobás sajátságai (Molan, 1992a; Laallam és mtsai, 2015; Kuš és mtsai, 2016; Süle, 2016).

2.9. *Arthrospira platensis* (Spirulina)

A mesterséges úton előállított vitamin- és mikroelem-készítmények, ill. a gyógyszerek fogyasztása csökkenthető lenne, ha élelmiszereinket természetes eredetű vitaminokkal, fehérjékkel, esszenciális zsírsavakkal, mikroelemekkel és további, speciális hatású anyagokkal egészítenénk ki. Ennek egyik lehetséges módja az *Arthrospira platensis* cianobaktérium faj szárított biomasszájának (Spirulina) felhasználása savanyú tejtermékek gyártásához (Varga, 1999; Perez és mtsai, 2007; Akalin és mtsai, 2009; Guldás és Irkin, 2010; Beheshtipour és mtsai, 2012, 2013).

A régebben kéalgákként ismert cianobaktériumok a prokariota algák közé tartoznak, jöllehet közelebb állnak a valódi baktériumokhoz, mint a többi (eukariota) algához. A baktériumok fototróf nemzetségeitől az eltérő fotoszintetikus színanyaguk és az oxigéntermelő képességük különbözteti meg őket. Míg a baktériumok bakterioklorofillt, addig a cianobaktériumok klorofill-a-t tartalmaznak. A cianobaktériumok sejtjei mintegy 5-10-szer nagyobbak a baktériumokénál. Osztódással szaporodnak, ivaros szaporodásuk ismeretlen (Ördög, 1998).

Az *A. platensis* fonalas cianobaktérium faj, melynek soksejtű fonala teljes hosszában spirálszerűen felcsavarodik és rendszerint 5-7 csavarulatból áll. Nagyjából egyenlő távolságokra elhelyezkedő keresztfalak osztják sejtekre. Prokariota mikroszervezet lévén nem rendelkezik jól körülhatárolható sejtmaggal. Gram-negatív festődésű sejtfala murein alapú, több rétegű, mintegy 40-60 nm vastagságú (Balloni és mtsai, 1980; Tomaselli, 1997). Planktonszerűen, nagy mennyiségben fordul elő trópusi, ill. szubtrópusi, magas karbonáttartalmú, lúgos kémhatású (akár 11-es pH-értékű) vizekben. Elterjedtsége széleskörű, fő lelőhelye Afrika, de megtalálható Ázsiában és Dél-Amerikában is (Tomaselli, 1997; Graham és mtsai, 2009b). A Csád tó környéki afrikai és a Texcoco tó mellett élő mexikói őslakosok évszázadokon keresztül gyűjtötték élelmezési céllal a Spirulina biomasszát (Vonshak, 1997b), melyet manapság egysejtfehérjeként (SCP) (Anupama, 2000) és táplálék-kiegészítőként is felhasználnak világszerte. A Spirulina 2003-ban került fel az USA élelmiszer- és gyógyszerügyi hatósága (Food and Drug Administration) által vezetett ún. GRAS-listára. Élelmiszer-összetevőként történő alkalmazása biztonságos, ha egy adott termékben adagonként legfeljebb 0,5-3,0 g mennyiségben van jelen. Napi ajánlott bevitele 3-6 g, de egyes esetekben havi 3-12 g is elegendő (Tarantino, 2003).

A szárított *A. platensis* 3-7% nedvességet, 55-60% fehérjét, 6-8% lipidet, 12-20% szénhidrátot, 7-10% hamut, 8-10% rostanyagot, 1-1,5% klorofill-a-t és számos vitaminfajtát tartalmaz (Belay, 1997; Cohen, 1997; Vonshak, 1997b). A Spirulina

biomassza különlegesen gazdag fehérjékben (Graham és mtsai, 2009a). Ökonómiai szempontból a biliproteinek a legértékesebbek. Kétféle biliproteint is tartalmaz: c-fikocianint és allofikocianint, amelyek vízzoldható kék pigmentek. A fikocianin-tartalom a fehérjefrakció 20%-át is kiteheti (Cohen, 1997). Zsírsav-összetételét jelentős mértékben befolyásolják a környezeti feltételek, de átlagosan mintegy 45-50% telített és 50-55% telítetlen zsírsavat tartalmaz. A zsírsavfrakció 10-30%-a gamma-linolénsav, amely egy viszonylag ritkán előforduló, többszörösen telítetlen, egészségvédő hatással rendelkező zsírsavféleség. Megfelelő *Arthrospira* törzsek használata és korszerű feldolgozási technológia alkalmazása esetén a biomassa 1,0-1,5%-át gamma-linolénsav alkotja (Cohen, 1997; Vonshak, 1997b; Golmakani és mtsai, 2012).

Élelmezési célból az 1970-es évek vége óta állítanak elő Spirulinát, és napjainkig mintegy nyolcvan országban engedélyezték élelmiszerként történő forgalmazását az illetékes hatóságok (Belay, 1997; Vonshak, 1997a). A globálisan évente megtermelt mintegy 15.000 t Spirulina biomassa szinte teljes egészében emberi fogyasztás célját szolgálja. A legnagyobb előállító Kína (kb. 10.000 t/év), ahol a piac éves szinten közel 10%-kal bővül (Zhang és Xue, 2012; Chen és mtsai, 2016).

Újabban széles körben tanulmányozzák a Spirulinát bioaktív komponenseinek köszönhető gyógyhatása miatt. Számos kutatás igazolta, hogy a Spirulina biomassa, ill. annak kivonata antioxidáns tulajdonságokkal rendelkezik (Miranda és mtsai, 1998; Romay és mtsai, 1998; Bhat és Madyastha, 2000; Estrada és mtsai, 2001; Chopra és Bishnoi, 2008), és ebből adódóan hozzájárulhat a rák kialakulásának megelőzéséhez, ill. késleltetéséhez (Khan és mtsai, 2005; Santoyo és mtsai, 2006). Aktív hatást fejt ki egyes vírusokkal szemben, mint pl. a herpes simplex, a citomegalo, az influenza és a HIV-1 (Ayehunie és mtsai, 1998; Hernández-Corona és mtsai, 2002; Barrón és mtsai, 2008). Az újabb kutatási eredmények a Spirulina immunerősítő hatásáról tanúskodnak, ugyanis fokozza a makrofágok fagocitáló képességét, serkenti az antitestek és a citokinek termelődését, növeli a természetes ölüsejtek akkumulációját és aktiválja, mobilizálja a T- és B-limfocitákat (Hirahashi és mtsai, 2002; Khan és mtsai, 2005; Borchers és mtsai, 2008). Szabályozó szerepe van a lipid- és szénhidrát-anyagcserében, továbbá hozzájárul a bélmikrobiótát alkotó tejsavbaktériumok és bifidobaktériumok megőrzéséhez (Khan és mtsai, 2005; Beheshtipour és mtsai, 2012, 2013).

3. VIZSGÁLATI ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Közvetlenül értékesített termelői nyers tehéntej mikrobiológiai–higiéniai minősége

3.1.1. Általános vizsgálati elvek

A fogyasztóknak közvetlenül értékesített termelői nyers tehéntejjel kapcsolatos megfigyeléseinket és elemzéseinket 13 hónapon keresztül, 2013 júniusa és 2014 júniusa között végeztük. Azt feltételeztük, hogy mivel Budapesten több tucat tejautomata működik, részesedésük meghatározó lesz a mintavételi pontok között. Helyszíni szemlék során viszont megállapítottuk, hogy 2010-ig ugyan valóban nagy számban működtek Budapesten önkiszolgáló rendszerű tejautomaták, ezek többségét azonban időközben elszállították, vagy egyéb okból nem üzemeltek, és ez a tendencia a fennmaradó berendezések esetében tovább folytatódott. A fellelt és a vizsgálati programba beilleszthető automatákon kívül így piaci, valamint mozgó értékesítési pontokat (tejesautókat, házhozszállítási rendszereket) kerestünk.

3.1.2. A vizsgálati régió kiválasztása és bemutatása

A közvetlen értékesítés bizonyos formái a vidéki városokban terjedőben vannak, viszont a kisebb falvakban elterjedtségük változó, több helyütt még korlátozott. Kutatásunkhoz olyan vizsgálati területet kellett találni, ahol a mintavételi helyek potenciális száma nagy, emellett pedig a közvetlen értékesítés különféle gyakorlatai a lehető legnagyobb számban fellelhetők. Ezen kívül a mintavétel, a mintaszállítás és a vizsgálatok helyszíneit is figyelembe kellett venni, így a vizsgált régiót a Budapest–Mosonmagyaróvár tengely mentén tartottuk célszerűnek kijelölni. Ebben a viszonylatban kizárólag Budapesten teljesültek a mintavételi pontok számára és jellegére vonatkozó kritériumok, így megfigyeléseinket és a mintavételeket a fővárosban, annak összesen nyolc kerületében végeztük.

Budapesten termelői piacokon, vásárcsarnokokban, lakótelepeken és élelmiszer-üzletekben működő automatákból, mozgó értékesítési rendszereken keresztül, valamint átvételi pontokon vásárolhat a lakosság termelői nyers tejet, amelyek közül az első két forma a legismertebb. Mivel a nyers tej a romlandó termékek közé tartozik, nagybani piacokon nem értékesítik. Vizsgálatunkban az átvételi pontok kivételével valamennyi említett forrásból szereztünk be mintákat.

3.1.3. A mintavételi pontok kiválasztása

A mintavételi pontok kiválasztásánál elsőként azok számát kellett megállapítani, figyelembe véve a vizsgálat időtartama alatt így keletkező adatmennyiséget és az ezekből levonható következtetések helytállóságát. Tekintettel voltunk az időközben bekövetkező esetleges megszűnésekre is, így a kijelölt vizsgálati terület előzetes felderítését követően összesen 21 mintavételi pontot határoztunk meg Budapesten úgy, hogy a minták egy körjáratral, legfeljebb 10 óra alatt begyűjthetők legyenek. Egy mintavételi forduló hossza alkalmanként átlagosan 55 km volt. További szempontként szerepelt, hogy a kijelölt mintavételi pontok valamennyi meghatározó értékesítési csatornát és eladási gyakorlatot képviseljék (**3.1. táblázat**).

3.1. táblázat: A nyers tej közvetlen értékesítésének vizsgált csatornái és gyakorlatai (Jancsó és mtsai, 2016)

Az eladás / vásárlás helye, jellege		Hűtés	A tej tárolása eladáskor	Csomagolás típusa	Az eladó azonosító száma
Piac, vásárcsarnok		Hűtött	Kevert acéltartály vagy műanyag tartály (nyers tej adagoló)	Vásárló palackja vagy helyben vásárolt palack	1, 2, 3, 4, 7, 8, 14, 15, 16, 17, 19
		Hűtött	Hűtőpult, PET-palack	1,5 l PET-palack – termelő palackozza vagy vásárló palackja	18*
		Hűtött	Vitrines tejhűtő, PET-palack	1,5 l PET-palack – termelő palackozza	21
		Hűtött / nem hűtött	Acéltartály, műanyag tartály / hordó	Vásárló palackja	6, 18*
		Nem hűtött	Pulton, PET-palack	1,5 l PET-palack – termelő palackozza	5*
Önkiszolgáló értékesítés	Tejautomata közterületen	Hűtött	Acéltartály keverővel	Vásárló palackja	10
	Tejautomata élelmiszerboltban vagy szupermarketben	Hűtött	Acéltartály keverővel	Vásárló palackja vagy helyben vásárolt palack	9, 13
Mozgó értékesítés	Kistermelők regionális házhoz szállítási rendszere és piac	Nem hűtött	Személygépkocsi, PET-palack	1,5 l PET-palack (termelő palackozza)	5*
	Tejtermelők regionális házhoz szállítási rendszere	Hűtött	Áruszállító gépkocsi, PET-palack	1,0 l PET-palack (termelő palackozza)	20
	Tejtermelők regionális árusítása közterületen	Hűtött	Tartálykocsi	Vásárló palackja vagy helyben vásárolt palack	11, 12

* Az eladó egyszerre több értékesítési csatornát / gyakorlatot alkalmazott

3.1.4. A vizsgálandó minőségi jellemzők kiválasztásának szempontjai

A 853/2004/EK rendelet (III. melléklet, IX. szakasz, I. fejezet, III. rész) nyers tej esetében kötelezően vizsgálandó minőségi paraméterként említi az összcsíraszámot, a szomatikus sejtszámot és a gátlóanyag-maradványokat (European Parliament és Council of the European Union, 2004b). Megjegyezzük, hogy a 16/2008. (II.5.) FVM-SZMM együttes rendelet 4. és 5. paragrafusa emellett előírja még a zsírtartalom és a fehérjetartalom vizsgálatát, mint az árkonzekvencia érvényesítésének további két lényeges paraméterét (FVM-SZMM, 2008). A hazai nyers tej minősítési gyakorlatban az említetteken kívül laktóz- és zsírmentes szárazanyag-tartalmat is vizsgálnak. A fizikai-kémiai jellemzők közül vizsgálják továbbá a savfokot, a pH-értéket és a fagyáspontot.

Az összehasonlíthatóság érdekében, a felsorolt minőségi jellemzőkre vizsgáltuk meg a közvetlen értékesítésű tejmintákat, kiegészítve azokat egy higiénés

indikátorral, a kólifform-számmal. Ennek vizsgálata azért bír jelentőséggel, mert mértéke szoros kapcsolatot mutat a tejnyerés és a tejkezelés helyes higiéniai gyakorlatának betartásával. Az értékesítési pontokon, közvetlenül a mintavételt követően, a mintatartó palackban mért hőmérsékleti értékek ellenőrzésével célunk volt a technológiai fegyelem, a hűtlánc és az előírt tárolási hőmérséklet betartásának ellenőrzése.

3.1.5. Mintavétel

A nyers tej minősítés hazai rendszerét közvetlenül szabályozza a 852/2004/EK, a 853/2004/EK, a 854/2004/EK, valamint a 16/2008. (II.5.) FVM-SZMM együttes rendelet (European Parliament és Council of the European Union, 2004a,b,c; FVM-SZMM, 2008). Az említett joganyag egyebek mellett a minimálisan előírt vizsgálati gyakoriságról is rendelkezik, amellyel összhangban a kísérlet időtartama alatt valamennyi mintavételi ponton havonta két mintavételt és elemzést végeztünk. Vizsgálati eredményeinket így a tejminősítési rendszer azonos időszakból nyert adatainak tükrében is értékelhettük.

A vizsgálati minták térfogata jellemzően 0,5 l volt, de bizonyos mintavételi pontokon csak 1,0 l és 1,5 l térfogatú, polietilén flakonokba előzetesen kiadagolt mintákat lehetett vásárolni. Ezekről az esetektől eltekintve 0,5 l-es, DIN menettel, kiöntőgyűrűvel és műanyag kupakkal rendelkező, autoklávozható, steril, laboratóriumi üvegpalackokat használtunk. A mintavétel valamennyi értékesítési gyakorlat esetében magát a vásárlást jelentette, így a mintavételt megelőző egyneműsítésre, a minták reprezentativitására egyetlen esetben sem volt ráhatásunk.

3.1.6. Mintakonzerválás

A kistermelői rendelet (FVM, 2010) tárolási hőmérsékletre vonatkozó előírásai szerint a nyers tejet 6-8°C között tárolva 24 óráig, 0-6°C között tárolva pedig 48 óráig szabad értékesíteni. Hűtés nélkül a tejet a fejés befejezésétől számított 2 órán belül el kell adni. Ebből a követelményrendszerből kiindulva, tartósítószer nem használtunk, mivel azt a mintavétel helyszínén körülményes lett volna megfelelő koncentrációban a mintákhoz adni. Így kizárólag fizikai tartósítással éltünk, 4°C-ot nem meghaladó tárolási hőmérséklet formájában, amely legjobban modellezte a közvetlenül értékesített nyers tej vásárlásának, szállításának és otthoni tárolásának körülményeit. A szomatikus sejtszám vizsgálati mintáit fagyasztva, -20°C-on tároltuk.

3.1.7. Mintaszállítás és a minták vizsgálata

A mintavételt követően a mintákat 2 db 40 l-es, műanyag, formahab szigetelésű hűtládában helyeztük el, a megfelelő tárolási hőmérsékletet gél- és folyadéktöltésű hűtőakkumulátorok biztosították. A mintaszállítás végeztével a mintákat a vizsgálatok megkezdéséig hűtőszekrényben vagy hűtőkamrában tároltuk, 2-4°C hőmérsékleten. A szomatikus sejtszám kivételével a minták összes minőségi jellemzőjének vizsgálata a Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet (MTKI) Kft. mosonmagyaróvári részlegén történt. A laboratórium dolgozói a minta-előkészítést követően, de a vizsgálatok megkezdése előtt 100 ml mintát különítettek el a nyers tej minősítésben használt mintavételi flakonokba, amelyeket fagyasztott állapotban (-20°C) Budapestre szállítottak a szomatikus sejtszám vizsgálatok elvégzése céljából.

A minőségellenőrző vizsgálatok jellemzően az adott mintasorozat első elemének megvételétől számított 24 órán belül megkezdődtek, ennek az időintervallumnak a hossza csak a szomatikus sejtszám vizsgálatok esetében haladta meg a 36 órát. Az említett tárolási körülmények Unger (1996) szerint is alkalmasak a minták eredeti állapotának megőrzésére. A laboratóriumban alkalmazott összes vizsgálati módszert a Nemzeti Akkreditáló Testület (NAT, Budapest) akkreditálta. A nyers tej minősítés azonos időszakra vonatkozó hivatalos eredményei az MTKI Kft. (Budapest) adatbázisából származtak.

3.1.8. Az alkalmazott vizsgálati módszerek

Közvetlenül a mintavételt követően került sor a minták hőmérsékletének ellenőrzésére, amelyet fém szondával rendelkező, digitális beszűrő hőmérővel (DSM Food Specialties, Heerlen, Hollandia) mértünk a mintavételi üvegben. A hőmérő tejjel érintkező felületére lerakódott zsírfázis eltávolítása érdekében és a bakteriális szennyeződések áthordását megelőzendő, a hőmérő szondáját minden mintavétel előtt és után 70%-os etanol-oldattal átitatott steril papírvattával tisztítottuk meg. A savfok-vizsgálat titrimetriás módszerrel, míg a pH-érték vizsgálata potenciometriás módszerrel történt az MSZ 3707:1981 szabvány 2. és 3. fejezetében leírtak szerint (Magyar Szabványügyi Testület, 1981a,b).

Az összcsíraszám vizsgálata lemezöntéses élősejt-szám meghatározási módszerrel történt, az ISO 4833-1:2013 szabvány szerint (ISO, 2013). A mikrobiológiai–higiéniai vizsgálatok közül egyedül a szomatikus sejtszám vizsgálata zajlott automatizált, műszeres úton, Fossomatic 5000 típusú műszerrel (Foss Analytical, Hillerød, Dánia), a MÉ 3-2-1/2004 III. mellékletének 3. fejezete szerint (Magyar Élelmiszerkönyv Bizottság, 2013a). A kólifformszám meghatározása szintén telepszámlálós módszerrel történt az ISO 4832:2006 szabvány alapján (ISO, 2006). A gátlóanyag-maradványok vizsgálatához Delvotest SP NT tesztanyagot (DSM Food Specialties) használt a laboratórium, a MÉ 3-2-1/2004 III. mellékletének 5. fejezetében ismertetett eljárást követve (Magyar Élelmiszerkönyv Bizottság, 2013b).

3.1.9. A vizsgálati eredmények matematikai–statisztikai elemzése

Eredményeink értékelését a hazai nyers tej minősítési rendszer adatainak tükrében végeztük el. Összehasonlító adatok hiányában, a hőmérsékleti adatokat, a savfok- és a pH-eredményeket, valamint a kóliform vizsgálatok eredményeit a jogszabályi előírások és szakmailag elfogadott határértékek alapján dolgoztuk fel.

A hazai nyers tej minősítési rendszer adatbázisából a vizsgálat időtartamára (2013. június – 2014. június) vonatkozóan havi bontásban és összesített formában gyűjtöttük ki az egyes minőségi jellemzők átlag- és szórásértékeit. Az említett adatbázisból a vizsgálati eredmények rögzített osztályközök szerint is kigyűjthetők. A két eredményhalmaz összehasonlíthatósága érdekében, a vizsgálataink során nyert adatok értékeléséhez a hazai nyers tej minősítésben alkalmazott osztályköz határokat és terjedelmeket alkalmaztuk. Az osztályközös értékelés előnye, hogy így adatvesztés nélkül értékelhetők az egyes minőségi jellemzők, mivel nincsenek statisztikai szempontból kiugró értékek. Vizsgálataink 13 hónapja alatt 33.035 db minta elemzésére került sor a nyers tej minősítés keretein belül.

A vizsgálatok során keletkezett összes eredményt paraméterenként gyakorisági sorokba rendeztük, amelyeket ábrákon mutatunk be. A kutatásunkban szereplő 21

értékesítési pont vizsgálati eredmény-átlagainak alakulását, továbbá a vonatkozó szórás- és szélsőértékeket táblázatokban foglaltuk össze. Ahol szükséges volt a kiugró értékeket kizárása a további értékelésből, ott Thompson-próbát alkalmaztunk ($\alpha = 0,05\%$). A statisztikai próbával szűrt eredmények feldolgozása során a szélsőértékeket – a próba eredményétől függetlenül – minden esetben feltüntettük, azokat az eredeti, szűretlen adatsorokból véve át.

A közvetlen értékesítésben nagyon nehéz, vagy egyáltalán nem lehetséges tejmennyiséggel súlyozott adatokat nyerni, így a közvetlen értékesítés súlyozatlan adatait hasonlítottuk a nyers tej minősítési rendszer (felvásárolt tejek) súlyozott adataihoz.

A vizsgálati eredmények háttérében feltételezhető összefüggések szorosságát korrelációanalízissel értékeltük. A korrelációs együttható (r) 0,9-1 értéke esetén a vizsgált változók közötti összefüggést rendkívül szorosnak, 0,75-0,9 tartományban szorosnak, 0,5-0,75 értékek mellett érzékelhetőnek, 0,25-0,5 értékek mellett lazának, és 0,25-nál kisebb értékek esetén értékelhetetlennek minősítettük. Helyes következtetések levonása érdekében, a kapott korrelációs együttható értékétől függetlenül, minden esetben megvizsgáltuk a korrelációanalízis alapjául szolgáló mérési eredmények alakulását is. Az értékelés során főátlag alatt az összes mérési pont valamennyi vizsgálati eredményének számtani átlagát értjük. Az egyéb matematikai–statisztikai értékelési műveleteket Microsoft Excel 2010 program (Microsoft, Redmond, WA, USA) segítségével végeztük el.

3.2. Kecsketej mikrobiológiai–higiéniai minőségének alakulása a laktáció során, a fejéstől a hűtve tárolásig

3.2.1. A vizsgálatok helyszíne

A vizsgált, nyugat-bakonyi kecsketej-termelő gazdaságban mintegy 200 db fejős kecske volt található, melyek zömmel a parlagi (tincses) magyar fajtához tartoztak. Az állatok takarmányozása legeltetésen alapult, a fejések alatti abrak-kiegészítéssel. Az abrakadag mennyisége attól függött, hogy az állatok laktációjuk melyik szakaszában voltak. Emellett lucernaszénát kaptak még, rossz idő esetén pedig csak szénát és abrakot. Folyamatosan zajlott az állomány import bakokkal történő feljavítása. A világos színű nőivarú egyedeket szánentáli bakokkal, a sötét színűeket pedig bajor barna bakokkal fedeztették. Az ellések a februári–márciusi időszakra estek, a nagyobb volumenű tejtermelés május és november között történt, ezért vizsgálatainkat ez utóbbi intervallumra időzítettük, 2005-ben, amikor a gazdaság napi összes tejtermelése 150-300 l közötti volt. A fejés tízállásos, négy fejőkészülékes fejőházban történt, naponta két alkalommal, 5:00 órától, ill. 16:00 órától kezdődően.

3.2.2. Mintavétel

Négy mintavételi pontot jelöltünk ki az alábbiak szerint: egyedi állatok (I.), tejléválasztó csap a tejvezetékben (II.), hűtőtárolóba beömlő vezeték (III.) és 1500 l-es hűtőtároló tank (IV.). Mindegyik mintavételi ponton, minden alkalommal 4 db 200 ml-es mintát vettünk, és havonta 2 mintavételezés történt 7 hónapon keresztül. A fejés teljes időtartamának figyelembe vételével, arányos időközönként gyűjtöttük az egyes pontokon az alkalmankénti 4-4 db nyers tej mintát.

3.2.3. Laboratóriumi vizsgálatok

A minták aerob mezofil mikrobaszámának (Bundesgesundheitsamt, 2004a), kóliformszámának és *E. coli*-számának (Bundesgesundheitsamt, 1992), koaguláz-pozitív *Staphylococcus*-számának (Bundesgesundheitsamt, 2004c), ill. gátlóanyag-tartalmának (Magyar Élelmiszerkönyv Bizottság, 2003) meghatározását, valamint a pH-méréseket (Magyar Szabványügyi Testület, 1981b) a Nyugat-magyarországi Egyetem (NymE) Mezőgazdaság- és Élelmiszer-tudományi Kara (MÉK) Élelmiszer-tudományi Intézetének német akkreditációval rendelkező vizsgáló-laboratóriumában végeztük el; a szomatikus sejtszám meghatározásokra (ISO, 1997b) pedig az MTKI Kft. akkreditált nyerstej-minősítő laboratóriumában került sor, Budapesten.

3.2.4. Matematikai–statisztikai értékelés

A vizsgálatok során keletkezett adatok varianciaanalízisét a STATISTICA 8.0 számítógépes adatelemző programcsomag (StatSoft, Tulsa, OK, USA) felhasználásával végeztük el az általános lineáris modell szerint. Az átlagértékek közötti eltérések szignifikáns, ill. nem szignifikáns voltát a Duncan-féle többszörös összehasonlító vizsgálat segítségével állapítottuk meg, 95%-os valószínűségi szinten (StatSoft). Az összehasonlításokat a vizsgálati időpontok (hónapok) és a mintavételi helyek (I.-IV.) között is elvégeztük.

3.3. Nyers tehéntejeből izolált *Staphylococcus aureus* törzsek jellemzése

3.3.1. A vizsgált tejtermelő gazdaságok

2005 júniusától 2006 augusztusáig tartó vizsgálatainkba Hajdú-Bihar megyei tejtermelő gazdaságokat vontunk be az alábbiak szerint: hét nagygazdaság (> 1.000.000 l/év tejtermelés), négy közepes méretű gazdaság (100.000-1.000.000 l/év) és kilenc kisgazdaság (< 100.000 l/év). A tejlő tehenek száma gazdaságonként 4 és 520 közötti volt. A nagy és közepes méretű gazdaságokban jellemzően holstein-fríz, míg a kisgazdaságokban többnyire magyar tarka fajtájú tehenek termeltek. Az egyes gazdaságok különféle tartás- és fejésmódokat alkalmaztak (**3.2. táblázat**). Az elegytej *Staph. aureus* élősejt-számát mindegyik gazdaságban négy-négy alkalommal határoztuk meg a vizsgálatok során. A molekuláris biológiai módszerekkel (PCR és PFGE) megvizsgált izolátumokat a 2006. januári mintavételek alkalmával gyűjtöttük.

3.2. táblázat: A vizsgált gazdaságok főbb jellemzői

Méret	Éves tejtermelés (t)	Vizsgált gazdaságok száma	Tartásmód	Fejésmód
Nagy	> 1000	7	Mélyalmos (3) és pihenőboxos (4)	Fejőházi (7)
Közepes	100-1000	4	Mélyalmos (1) és kötött (3)	Fejőházi (1), sajttáros (1) és tejvezetékes (2)
Kicsi	< 100	9	Kötött (9)	Sajttáros (9)

3.3.2. *Staphylococcus aureus* izolálása és élősejt-számainak meghatározása

Az összes gazdaságban, minden egyes mintavételezés során 50 ml-nyi nyers tej mintákat gyűjtöttünk, amelyeket ezt követően 4°C-on tartottunk a laboratóriumi

vizsgálatok kezdetéig. A *Staph. aureus* elegyitejből történő izolálását a Nemzetközi Szabványügyi Szervezet EN ISO 6888-1 jelű szabványmódszerében leírtak szerint végeztük (ISO, 1999), tojássárga–tellurit emulzióval kiegészített Baird-Parker táptalaj (Oxoid, Basingstoke, Egyesült Királyság) felhasználásával. Az agarlemezeket aerob körülmények között inkubáltuk 37°C-on, 24-48 órán keresztül. Amennyiben lehetséges volt, levettünk a lemezekről 5-5 db tipikus, ill. atipikus telepet, és elvégeztük ezek további azonosítását.

Azokban a gazdaságokban, ahol problémaként jelentkezett a nagy *Staph. aureus*-sejtszám, a fejés megkezdése előtt néhány felületről (pl. fejőkehely, tejgyűjtő tartály, fejősajtár, tejszállító kanna, tejház belső falfelülete, fejő tenyere, stb.) környezeti mintákat is vettünk steril tamponok segítségével. A környezeti minták vizsgálata az elegyitej mintákéval megegyezően történt.

Emellett bizonyos esetekben gyűjtöttünk még tejmintákat tőgygyulladásban szenvedő tehenek beteg tőgynegyedeiből is. Ezeket Columbia véresagarra (Oxoid) szélesztettük ki és a lemezeket 37°C-on, 24 órán keresztül, aerob körülmények között inkubáltuk. Mindegyik lemez felületéről véletlenszerűen levettünk néhány gyanús telepet és elvégeztük fenotípusos azonosításukat.

Az agarlemezokről levett *Staph. aureus*-gyanús telepeket aerob körülmények között, 37°C-on, 18-24 órán keresztül agy–szív táplevesben (Brain Heart Infusion Broth; Oxoid) inkubálva felszaporítottuk, majd kiszélesztettük a másik fajta szelektív agarlemez felületére, azaz Columbia véresagarra (elegyitej-, ill. környezeti eredetű minták), vagy tojássárga–tellurit emulzióval kiegészített Baird-Parker táptalajra (tőgynegyed-tej minták) is. Az izolátumokat csak akkor tekintettük *Staph. aureus*-nak, ha az alábbi vizsgálatok eredményei ezt egyöntetűen megerősítették: telepmorfológia, Gram-festés, kataláz teszt, tellurit redukció, lecitináz aktivitás, hemolitikus tulajdonságok, koaguláz termelés: szabad koaguláz (csőpróba), ill. sajtfalhoz kötött koaguláz ("clumping factor") (Staphylase test; Oxoid).

A különböző üzemméretű gazdaságokból gyűjtött nyers elegyitej minták *Staph. aureus* élősejt-számainak csoportátlagait összehasonlítottuk, hogy meghatározzuk a köztük lévő eltérések szignifikáns voltát. A cfu/ml-ben kifejezett sejtszámokat logaritmizáltuk és az adatokat a STATISTICA 7.1 szoftvercsomag (StatSoft) *t*-próbájának segítségével vizsgáltuk, 95%-os szignifikancia szinten. Eredményeinket az EU tejhigiéniai rendeletében (Council of the European Communities, 1992) szereplő, vonatkozó határértékekkel is összehasonlítottuk.

3.3.3. *Staphylococcus aureus* törzsek antibiotikum-érzékenységének vizsgálata

A *Staph. aureus* izolátumok antibiotikum-érzékenységének vizsgálatát Mueller-Hinton agaron (Oxoid), agardiffúziós korongteszt módszerrel végeztük el, a Clinical Laboratory Standards Institute előírásai szerint (CLSI, 2006). Az alábbi antibiotikumokat teszteltük: penicillin (10 U/korong), methicillin (5 µg/korong), cefoxitin (30 µg/korong), lincomycin (15 µg/korong), tetracycline (30 µg/korong), erythromycin (15 µg/korong) és sulfamethoxazole / trimethoprim (23,75 / 1,25 µg/korong). A kontroll törzs szerepét a *Staph. aureus* ATCC 25923 töltötte be.

3.3.4. A *Staphylococcus* enterotoxinokat kódoló gének amplifikációja

A kilenc kiválasztott SE-gén (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*, *sei* és *sej*), valamint a TSST-1 gén (*tst*) jelenlétének detektálásához használt oligonukleotid primerek bázissorrendjét és a PCR termékek méretét a **3.3. táblázat** szemlélteti. A

DNS amplifikáció 30 ciklusban történt (95°C-on 60 mp-ig, 55°C-on 60 mp-ig és 72°C-on 60 mp-ig), az utolsó ciklus után egy 72°C-os 10 perces végső szakasz következett. Az amplifikációhoz automata, programozható, GeneAmp PCR System 9700 típusú készüléket (Perkin-Elmer, Wellesley, MA, USA) és Platinum Taq DNS-polimerázt (Invitrogen, Lofer, Ausztria) használtunk. A PCR termékeket 1,5%-os agaróz gélen történő elektroforézist követően etidium-bromiddal megfestettük és UV-megvilágításban lefényképeztük.

3.3. táblázat: *Staphylococcus enterotoxinokat kódoló gének amplifikációjához használt oligonukleotid primerek bázissorrendje és a PCR termékek mérete*

Gén	Primer	Primer szekvencia (5'–3')	PCR termék mérete (bp)	Forrás
sea	GSEAR-1	GGT TAT CAA TGT GCG GGT GG	102	Mehrotra és mtsai (2000)
	GSEAR-2	CGG CAC TTT TTT CTC TTC GG		
seb	GSEBR-1	GTA TGG TGG TGT AAC TGA GC	164	Mehrotra és mtsai (2000)
	GSEBR-2	CCA AAT AGT GAC GAG TTA GG		
sec	GSECR-1	AGA TGA AGT AGT TGA TGT GTA TGG	451	Mehrotra és mtsai (2000)
	GSECR-2	CAC ACT TTT AGA ATC AAC CG		
sed	GSEDR-1	CCA ATA ATA GGA GAA AAT AAA AG	278	Mehrotra és mtsai (2000)
	GSEDR-2	ATT GGT ATT TTT TTT CGT TC		
see	GSEER-1	AGG TTT TTT CAC AGG TCA TCC	209	Mehrotra és mtsai (2000)
	GSEER-2	CTT TTT TTT CTT CGG TCA ATC		
seg	SEG-1	TGC TAT CGA CAC ACT ACA ACC	704	McLauchlin és mtsai (2000)
	SEG-2	CCA GAT TCA AAT GCA GAA CC		
seh	SEH-1	CGA AAG CAG AAG ATT TAC ACG	495	McLauchlin és mtsai (2000)
	SEH-2	GAC CTT TAC TTA TTT CGC TGT C		
sei	SEI-1	GAC AAC AAA ACT GTC GAA ACT G	630	McLauchlin és mtsai (2000)
	SEI-2	CCA TAT TCT TTG CCT TTA CCA G		
sej	SEJ-1	CAT CAG AAC TGT TGT TCC GCT AG	142	Monday és Bohach (1999)
	SEJ-2	CTG AAT TTT ACC ATC AAA GGT AC		
tst	GTSSTR-1	ACC CCT GTT CCC TTA TCA TC	326	Mehrotra és mtsai (2000)
	GTSSTR-2	TTT TCA GTA TTT GTA ACG CC		

3.3.5. *Staphylococcus aureus* törzsek genetikai kapcsolatainak felderítése

A *Staph. aureus* izolátumok kromoszomális DNS-ének makrorestrikciós analíziséhez *Sma*I restrikciós enzimet (New England BioLabs, Beverly, MA, USA) és PFGE-t alkalmaztunk. A vizsgálatokhoz a *Staph. aureus* izolátumok agy–szív táplevesben, aerob körülmények között, 37°C-on, 18-24 órán keresztül inkubált tisztatenyészeteket használtuk. A sejteket centrifugálás után PIV oldatban (1 M NaCl, 25 mM Tris-HCl, pH 8,0) újrassuszpendáltuk. A szuszpenziót egyenlő mennyiségű, 1,2% alacsony olvadáspontú SeaKem Gold agarózzal (Cambrex Bio Science, Rockland, ME, USA) elegyítettük. A megszilárdult agardugókat 10 mg/ml ribonukleázzal (RNáz), 10 mg/ml lizozimmal és 5 mg/ml lizosztatinnal kiegészített EC lízis pufferben (6 mM Tris-HCl, 1 M NaCl, 0,1 M EDTA, 0,2% Na-dezoxikolát, 0,5% Na-lauril-szarkozin) inkubáltuk 37°C-on, egy éjszakán át. Ezután az EC lízis puffert eltávolítottuk, majd a dugókat egy éjszakára ESP pufferbe (0,5 M EDTA, 1% lauril-szarkozin, 1 mg/ml proteináz K) helyeztük és 50°C-on tartottuk. A következő napon a dugókat TE pufferben (10 mM Tris, pH 8,0, 1 mM EDTA) 54°C-on, 30-60 percen keresztül négy alkalommal átmostuk. Az így elkészített dugókat a felhasználásig TE pufferben tároltuk 4°C-on.

A dugókat, a gyártó előírásai szerint, 40 U *Sma*I (New England BioLabs) enzimmal emésztettük. Az emésztett DNS fragmentumok szétválasztása 1% SeaKem Gold agaróz gélben (Cambrex Bio Science) történt, CHEF DR III (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA) PFGE készülék és 0,5 × Tris-borát-EDTA puffer (1 M Tris, 0,01 M EDTA, 1 M bórsav) használatával. A futtatási paraméterek az alábbiak

szerint alakultak: 5-15 mp 7 órán keresztül (I. blokk), majd 15-60 mp 19 órán keresztül (II. blokk); 6 V/cm; 120°-os szög; 14°C-on. A futtatott géleket etidium-bromiddal (0,5 µg/ml) 30 percig festettük, majd desztillált vízzel 30-60 percig tartó mosással eltávolítottuk a felesleges festéket. A fragmentumokat UV-fénnyel láthatóvá tettük és lefényképeztük. Markerként *Xba*I enzimmel emésztett *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype Braenderup H9812 törzs szolgált.

A DNS restrikciós sávok elemzését Molecular Analyst Fingerprinting II, version 3.0 (Bio-Rad) szoftver segítségével végeztük el. A hasonlóságok leírására a Dice koefficiens, a csoportanalízisre (dendrogram készítésére) pedig a számtani átlagok súlyozatlan pár-csoport módszerét (UPGMA) alkalmaztuk. Az optimalizáció értéke 0,5%, a pozíciótűrés 1,0% volt. A klaszterek kialakítása 86%-os hasonlósági szint felett történt. Az izolátumokat 100%-os hasonlósági szint esetén genetikailag azonosaknak (főtípus, pulzotípus), 86-99%-os hasonlóság esetén közeli rokonoknak (altípus), 86% alatt pedig különböző pulzotípusoknak tekintettük. A főtípusokat nagybetűvel, az altípusokat nagybetűvel és arab számmal jelöltük.

3.4. *Escherichia coli* O157:H7 tejből történő kimutatására szolgáló módszerek összehasonlító értékelése és *E. coli* O157:H7 előfordulása nyers tehéntejben

3.4.1. *Escherichia coli* törzsek

Módszer-összehasonlító kísérleteinket az alábbi törzsek felhasználásával végeztük:

- *E. coli* O157:H7-VT(N) NCTC 121900, verotoxint nem termelő, liofilezett referenciatörzs (Oxoid). API 20E biokémiai teszt (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Franciaország) szerinti azonosító profilja: 5144152.
- *E. coli* ATCC 25922, liofilezett referenciatörzs (Oxoid). API 20E biokémiai teszt (bioMérieux) szerinti azonosító profilja: 5144552.
- *E. coli*, hazai tejtermékből izolált törzs. API 20E biokémiai teszt (bioMérieux) szerinti azonosító profilja: 5044552.

A törzseket pufferelt peptonvízben szaporítottuk fel 37°C-on, 24 órán át tartó inkubálással. Minden egyes baktérium-tenyészetből hígítási sort készítettünk és Chromocult Coliform Agaron (Merck, Darmstadt, Németország), 37°C-on, 24 óras aerob inkubálás után meghatároztuk a hígítási sor tagjainak élősejt-számát (cfu/ml), majd a kiválasztott tagokkal beoltottuk az alapszuszenziókat (UHT tej, ill. nyers tej tételeket). Az *E. coli* O157:H7-VT(N) NCTC 121900 törzzsel valamennyi alapszuszenziót kis mennyiségben (5-15 cfu/ml) inokuláltuk, hogy ezzel egyrészt modellezzük a fertőzéshez szükséges alacsony élősejt-számot, másrészt hogy a szaporodási intenzitás jól mérhető legyen.

3.4.2. Tejek

Az *E. coli* O157:H7 modell tejtápközegből történő kimutatási hatékonyságának meghatározását célzó vizsgálataink alapanyagául a célmikrobával [*E. coli* O157:H7-VT(N) NCTC 121900] és háttérflórával (apatogén *E. coli* ATCC 25922) különböző mértékben, mesterségesen beszenyezett, 2,8% zsírtartalmú UHT tejet használtunk; tejtermelő tehenészetekből származó nyers tej mintákat pedig az alábbi kísérleteinkhez vettünk:

- *E. coli* O157:H7 kimutatási hatékonyságának meghatározása a célmikrobával [*E. coli* O157:H7-VT(N) NCTC 121900] mesterségesen beszennyezett, különböző nagyságú természetes háttérflórát (kóliformok, ill. *E. coli*) tartalmazó nyers tejelekből;
- a kimutatási módszerek érzékenységének, specifikusságának és pontosságának vizsgálata;
- *E. coli* O157:H7 előfordulási gyakoriságának meghatározása hazai nyers tejelekből.

3.4.3. Kimutatási módszerek

Vizsgálataink során négy "klasszikus" módszert és egy ún. ELFA (Enzyme-Linked Fluorescent Assay) típusú immunológiai eljárást értékeltünk az alábbiak szerint:

- az ISO 11866-1:1997 szabványmódszere tej és tejtermékek feltételezetten *E. coli* számának határhígításos eljárással történő meghatározására (ISO, 1997a);
- a PHLS (Public Health Laboratory Service) 1. számú módszere *E. coli* O157:H7 élelmiszerekből történő kimutatására (PHLS, 1995a);
- a PHLS 2. számú módszere *E. coli* O157:H7 tejtermékekből történő kimutatására (PHLS, 1995b);
- az US FDA BAM (United States Food and Drug Administration, Bacteriological Analytical Manual) C módszere enterohaemorrhagiás *E. coli* kimutatására (US-FDA, 1995);
- a bioMérieux cég Mini-VIDAS ECO elnevezésű, *E. coli* O157 kimutatására szolgáló automatizált immunológiai módszere, melyet a Francia Szabványügyi Szervezet (AFNOR) validált és BIO 12/08 – 07/00 azonosító számon tart nyilván (AFNOR, 2004).

A módszerek főbb jellemzőiről (paramétereiről) az eredmények ismertetése során ejtünk szót.

3.4.4. A módszerek érzékenységének, specifikusságának és pontosságának meghatározása

150 db nyers tej minta vizsgálatával határoztuk meg az egyes módszerek használati alkalmasságát jelző főbb paramétereket. 47 db minta nem tartalmazta a célmikrobát (*E. coli* O157:H7), 103 db mintába viszont bejuttattuk azt, 5-15 cfu/ml mennyiségben.

Igaz pozitívnak (IP), ill. hamis pozitívnak (HP) tekintettünk minden olyan esetet, amikor a vizsgálat helyesen (IP), ill. hibásan (HP) jelezte a célmikroba jelenlétét a mintában. Igaz negatív (IN) eredmény esetében az adott módszer valóban, hamis negatív (HN) esetben viszont helytelenül állapította meg a célmikroba hiányát a vizsgált nyers tej mintában. Ezek alapján, a következők szerint számítottuk ki az egyes módszerek érzékenységét, specifikusságát és pontosságát (Zhu és mtsai, 2010):

- Érzékenység (%) = $\frac{IP}{IP + HN} \times 100$;
- Specifikusság (%) = $\frac{IN}{IN + HP} \times 100$;

$$\bullet \text{ Pontosság (\%)} = \frac{IP + IN}{IP + IN + HP + HN} \times 100.$$

3.5. Teve-, tehén-, kecske- és juhtejből előállított ABT-típusú natúr savanyú tejtermékek hasznos mikrobiotájának hűtve tárolás alatti túlélése

3.5.1. Alapanyagtejek

Négy állatfaj (teve, szarvasmarha, kecske és juh) tejét használtuk fel alapanyagul probiotikus savanyú tejtermékek előállításához. A tevetejét az Emirates Industry for Camel Milk and Products (EICMP; Dubaj, Egyesült Arab Emírségek), a világ első nagyüzemi tevetejtermelő cége juttatta el hűtött körülmények között (0-8°C) Mosonmagyaróvárra. A nyers tehéntejet a Lajta-Hanság Zrt. (Mosonmagyaróvár), a kecsketejet a Tebike Kft. (Győr-Ménfőcsanak), a juhtejet pedig a PharmaGene-Farm Kft. (Mosonmagyaróvár) bocsátotta rendelkezésünkre. A nyers tejek zsír-, fehérje-, laktóz- és szárazanyag-tartalmát az MTKI Kft. (Mosonmagyaróvár) vizsgálta meg MilkoScan Minor 4 műszerrel (Foss Analytical). Az eredményeket a **3.4. táblázat** szemlélteti.

3.4. táblázat: A savanyú tejtermékek alapanyagául felhasznált nyers tejek* beltartalmi összetétele (g/100 g)

Összetevő	Tevetj	Tehéntj	Kecsketej	Juhtej
Zsír	2,31	3,71	3,29	5,95
Fehérje	2,85	3,25	2,95	5,42
Tejcukor	4,38	4,57	3,93	4,35
Zsírmentes szárazanyag	7,99	8,50	7,69	10,93
Szárazanyag	10,30	12,21	10,98	16,88
Víz	89,70	87,79	89,02	83,12

* n = 2

A nyers tejeket felhasználás előtt 90°C-on 10 percig hőkezeltük egy Pearl M típusú vízfürdős hőkezelő medencében (Julabo Labortechnik, Seelbach, Németország).

3.5.2. Kultúra

A 40°C-ra visszahűtött tejeket 0,2 U/l (2,0%) koncentrációban beoltottuk ABT-5 jelű fagyasztva szárított DVS kultúrával (Chr. Hansen, Hørsholm, Dánia), amely *Lactobacillus acidophilus* La-5 (A), *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 (B) és *Streptococcus thermophilus* (T) törzseket tartalmazott (Chr. Hansen A/S, 2001).

3.5.3. Termékgyártás és tárolás

A beoltott alapanyagtejek inkubálása 37°C-on történt, 4,6-es pH-érték eléréséig. Ezt követően gyors, jeges vizes hűtés következett 15°C-ra. Mind a négy termékből külön-külön 21 egységnyi adagoltunk ki 50 ml-es, steril, jól zárható centrifugacsövekbe (Greiner Bio-One Hungary Kft., Mosonmagyaróvár). Egy napos, 8°C-os előhűtést követően a mintákat hűtőszekrénybe helyeztük és 4°C-on tároltuk 6 hétig. A termékgyártás teljes folyamatát két ismétléssel hajtottuk végre.

3.5.4. Mikrobiológiai vizsgálatok

A gyártást követő 0., 7., 14., 21., 28., 35. és 42. napon mind a négy termékből három-három egységet elővettünk és meghatároztuk a kultúra eredetű baktériumok (*Lb. acidophilus*, *B. animalis* subsp. *lactis*, *Strep. thermophilus*), ill. egyes szennyező mikroorganizmusok (élesztő- és penészgombák, kóliformok, *E. coli*) élősejt-számait az alábbiak szerint.

3.5.4.1. *Streptococcus thermophilus* számbeli meghatározása

A *Strep. thermophilus* élősejt-számát lemezöntéses eljárással, M17 agaron (Merck) határoztuk meg (Süle és mtsai, 2014). A tápközeg pH-értéke $6,8 \pm 0,2$ volt (25°C-on). A beoltott lemezeket 45°C-on, 24 órán át inkubáltuk aerob körülmények között. A *Strep. thermophilus* tipikus telepei lencse alakúak, 1-2 mm átmérőjűek voltak. A telepképző egységek számát logaritmizált formában ($\log_{10}$ cfu/ml) adtuk meg.

3.5.4.2. *Lactobacillus acidophilus* La-5 számbeli meghatározása

A *Lb. acidophilus* élősejt-számának meghatározása is lemezöntéses eljárással történt, clindamycint és ciprofloxacint tartalmazó De Man–Rogosa–Sharpe (MRS–CC) agaron (ISO és IDF, 2006). Ennek elkészítéséhez először desztillált vízben szuszpendáltuk a dehidratált MRS agart (Merck). Miután a táptalaj hőmérséklete elérte a forráspontot, 250 ml térfogatú üvegekbe egyenként 200 ml-t adagoltunk ki és az általános sterilizációs paraméterek szerint (121°C, 15 perc), gőzzel telített légtérben, Varioklav 500E típusú berendezésben (H+P Labortechnik, Oberschleißheim, Németország) autoklávoztuk az MRS agart. Sterilizés után a tápközeg pH-értéke $6,2 \pm 0,2$ volt (25°C-on). Ezzel egyidejűleg feloldottunk 10-10 ml desztillált vízben 2,0 mg clindamycin-hydrochloridot (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA), ill. 20,0 mg ciprofloxacín-hydrochloridot (Sigma Aldrich), majd mindkét antibiotikum-oldatot átszűrtük 0,22 µm-es pórusátmérőjű membránszűrőn (Millipore, Bedford, MA, USA). Közvetlenül a lemezek öntése előtt, a 44-47°C-ra lehűtött MRS agarhoz (200 ml) aseptikus körülmények között 0,1 ml clindamycin- és 1,0 ml ciprofloxacín-törzsoldatot adtunk, így a clindamycin végleges koncentrációja az MRS–CC agarban 0,1 mg/l, a ciprofloxacíné pedig 10,0 mg/l lett.

Az inokulált agarlemezeket 37°C-on, 72 órán át inkubáltuk 2,5 l-es anaerob edényekben (Oxoid). A légköri oxigént AnaeroGen AN 25 tasakok (Oxoid) segítségével kötöttük meg, az O₂-szint csökkenését pedig az anaerob edénybe helyezett anaerob indikátorral (Oxoid) ellenőriztük. A *Lb. acidophilus* azonosítása telepmorfológia alapján történt, mikroszkópos megerősítéssel. A tipikus sejtek Gram-pozitív festődésű, lekerekített végű pálcák voltak. A telepképző egységek számát ebben az esetben is logaritmizált alakban ($\log_{10}$ cfu/ml) közöltük.

3.5.4.3. *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 számbeli meghatározása

A *B. animalis* subsp. *lactis* Bb-12 élősejt-számának lemezöntéses meghatározását lítium–mupirocinnal (MUP) kiegészített transzgalaktozilált oligoszacharid (TOS) agaron (TOS–MUP agar) végeztük (ISO és IDF, 2010). Ennek elkészítéséhez első lépésben 62,5 g TOS agart (Merck) 950 ml desztillált vízben szuszpendáltunk és gyakori keverés mellett óvatosan melegítettük. A teljes oldódás

után a táptalajból egyenként 190 ml-t adagoltunk ki 250 ml térfogatú üvegekbe, majd ezeket 115°C-on, 15 percig, Varioklav 500E típusú autoklávban (H+P Labortechnik) sterilizáltuk. A táptalaj pH-értéke a sterilizést követően $6,3 \pm 0,2$ volt (25°C-on). Ezzel egyidejűleg 50 mg lítium–mupirocin szelektív kiegészítőt (Merck) 50 ml desztillált vízben feloldottunk, majd 0,22 µm-es pórusátmérőjű membránszűrőn (Millipore) steril fecskendővel átszűrtük. Az így elkészített MUP oldatból, közvetlenül a lemezek öntése előtt, 10-10 ml-t adtunk hozzá a 190 ml térfogatú, 48°C-ra lehűtött TOS alapagarokhoz, ezért a TOS–MUP agarban a MUP koncentrációja 50 mg/l lett.

A beoltott lemezeket 37°C-on, 72 órán keresztül inkubáltuk 2,5 l-es anaerob edényekben (Oxoid). A légköri oxigént AnaeroGen AN 25 tasakok (Oxoid) használatával kötöttük meg, az O₂-szint kellő mértékű csökkenését pedig az edénybe helyezett anaerob indikátorral (Oxoid) ellenőriztük. A *B. animalis* subsp. *lactis* Bb-12 azonosítása telepmorfológia alapján történt, mikroszkópos megerősítéssel. A tipikus telepek szabálytalanok, vagy lencse alakúak voltak. A telepképző egységek számát – az előzőekhez hasonlóan – logaritmizált formában (log₁₀ cfu/ml) fejeztük ki.

3.5.4.4. Élesztőgomba- és penészgomba-szám meghatározása

Az élesztőgomba- és penészgomba-szám lemezöntéses meghatározása élesztőkivonat–glükóz–kloramfenikol (YGC) agaron (Merck) történt, melynek pH-értéke a sterilizést követően $6,6 \pm 0,1$ volt (25°C-on). Az inokulált agarlemezeket 25°C-on, 5 napig inkubáltuk. A vizsgálatok kivitelezésekor az MSZ ISO 7954:1999 jelű szabványban (Magyar Szabványügyi Testület, 1999) leírtak szerint jártunk el.

3.5.4.5. Kóliform- és *Escherichia coli*-szám meghatározása

A mintákban potenciálisan előforduló kóliform baktériumok, ill. *E. coli* élősejt-számának meghatározására a határhígításos eljárást (3-csöves MPN módszert) alkalmaztuk. A triptofánnal és 4-metil-umbelliferil-β-D-glükuroniddal (MUG) kiegészített brillantzöld–epe–laktóz (BBL) táplevest (Oxoid) Durham-féle fermentációs csövekkel ellátott kémcsövekbe adagoltuk. A tápleves pH-értéke $7,2 \pm 0,1$ volt (25°C-on). A decimális hígítási sorok egyes tagjaiból 3 × 1-1 ml-t pipettáztunk a BBL-táplevest tartalmazó kémcsövekbe. A beoltott csöveket 37°C-on, 24-48 órán át inkubáltuk, aerob körülmények között. Ennél a módszernél a Durham-csőben keletkező gázbuborék utal a kóliformok jelenlétére. A kóliform-pozitív csöveket UV-fény (366 nm) alatt szükséges ellenőrizni, és a fluoreszkáló kémcsövekhez 1-2 csepp Kovács-féle indol reagenst (Merck) kell adni. Az 1-2 perc alatt kialakuló meggypiros színű rozindol gyűrű egyértelműen bizonyítja az *E. coli* jelenlétét. Az eredmények értékelése Hoskins-táblázat (Montville és Matthews, 2008) segítségével történik.

3.5.5. Matematikai–statisztikai értékelés

Az élősejt-szám eredmények matematikai–statisztikai értékelését a STATISTICA 9.0 számítógépes adatelemző programcsomag (StatSoft) segítségével végeztük el az általános lineáris modell szerint. Az átlagértékek közötti eltérések szignifikáns, ill. nem szignifikáns voltát a Duncan-féle többszörös összehasonlító vizsgálat segítségével állapítottuk meg, 95%-os valószínűségi szinten (StatSoft).

3.6. Akácméz-kiegészítés hatása a starterbaktériumok életképességének alakulására joghurt hűtve tárolása során

3.6.1. Alapanyagtej

Az alapanyag 4 l, instant sovány tejporból (Friesland Hungária Rt., Debrecen) visszaállított, 12% szárazanyag-tartalmú tej volt, amelyet négy egyenlő részre osztottunk, 90°C-on 10 percig hőkezeltünk, majd 45°C-ra lehűtöttünk.

3.6.2. Méz

Az inkubációs hőfok közelébe visszahűtött tej 1-1 literéhez hozzáadtunk 1,0%, 3,0%, ill. 5,0% (g/100 ml) akácmézet (Apimel-R Kft., Tiszafüred). A negyedik egység (1 l) töltötte be a kontroll szerepét, ehhez nem adagoltunk mézet. A kísérletek kezdete előtt megvizsgáltuk az akácméz mikrobiológiai állapotát, hogy megállapítsuk, nem juttatunk-e általa a termékbe mikroorganizmusokat olyan mennyiségben és minőségben, ami esetleg befolyásolhatná eredményeink alakulását. A méz mikrobiológiai jellemzői a **3.5. táblázat**ban láthatók.

3.5. táblázat: A kísérletben felhasznált akácméz mikrobiológiai minősége

Mikrobacsoport	Eredmény
Aerob mezofil mikroorganizmus-szám (cfu/g)	$6,0 \times 10^0$
Élesztőgomba-szám (cfu/g)	$< 1,0 \times 10^0$
Penészgomba-szám (cfu/g)	$< 1,0 \times 10^0$
Mezofil szulfitredukáló klosztridiumok száma (cfu/g)	$< 1,0 \times 10^0$
<i>Salmonella</i> spp. (25 g-ban)	Negatív

3.6.3. Starterkultúra

Az előkészített kontroll-, ill. méztartalmú tejeket 0,2 U/l (2,0%) koncentrációban beoltottuk kis viszkozitású, közepesen erős ízkarakterű terméket eredményező, fagyasztva szárított DVS joghurtkultúrával (YC-350; Chr. Hansen).

3.6.4. Termékgyártás és tárolás

A beoltott tejtételeket Pearl M típusú vízfürdőben (Julabo Labortechnik) inkubáltuk 42,5°C-on, 3,5 órán keresztül, 4,6-es pH-érték eléréséig. Ezután gyors, jeges vizes hűtés következett 15°C-ra. Mind a négy termékből 21 egységnyi adagoltunk ki 30 ml-es, steril, jól zárható centrifugacsövekbe (Sarstedt, Nümbrecht, Németország). Egy napos, 8°C-os előhűtést követően a mintákat hűtőszekrénybe helyeztük és 6 héten keresztül 4°C-on tároltuk. A termékgyártás és tárolás teljes folyamatát két ismétléssel hajtottuk végre.

3.6.5. Mikrobiológiai vizsgálatok

A gyártást követő 0., 7., 14., 21., 28., 35. és 42. napon mind a négy termékből három-három egységet elővettünk és meghatároztuk a starterbaktériumok (*Strep. thermophilus* és *Lb. bulgaricus*), ill. egyes szennyező mikroorganizmusok (élesztő- és penészgombák, kóliformok, *E. coli*) élősejt-számaikat (**3.6. táblázat**).

3.6. táblázat: Starterbaktériumok és szennyező mikroorganizmusok élősejt-számának meghatározása joghurtban

Mikroorganizmus (csoport)	Módszer	Tápközeg	Inkubációs		
			körülmények	idő (óra)	hőfok (°C)
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Lemezöntés	M17 agar (Oxoid)	Aerob	48	37
<i>Lactobacillus bulgaricus</i> [☆]	Lemezöntés	MRS agar (Oxoid)*	Anaerob	72	37
Élesztő- és penészgombák	Lemezöntés	YGC agar (Merck)	Aerob	120	25
Kóliformok [<i>Escherichia coli</i>]	MPN	BBL tápleves (Oxoid) [+ triptofán és MUG [†]]	Aerob	24-48	37

[☆] *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

* Sterilizést követően a pH-t ecetsavval be kell állítani 5,4-re

[†] 4-metilumbelliferil-β-D-glükuronid (Oxoid)

A *Strep. thermophilus* élősejt-számát lemezöntéses eljárással, M17 agaron (Oxoid) határoztuk meg. A tápközeg pH-értéke $7,1 \pm 0,1$ volt. A beoltott lemezeket 37°C-on, 48 órán át inkubáltuk aerob körülmények között (IDF, 1997; Süle és mtsai, 2014). A *Strep. thermophilus* azonosítása telepmorfológia alapján történt, fénymikroszkópos megerősítéssel (Zeiss KF 2; Carl Zeiss AG, Göttingen, Németország). A tipikus telepek lencse alakúak, 1-2 mm átmérőjűek (IDF, 1997), a tipikus sejtek pedig Gram-pozitív festődésű, párokban álló, vagy akár hosszabb láncokat képző, 0,7-0,9 μm átmérőjű gömbök voltak (IDF, 1997; Robinson, 2011b). A telepképző egységek számát logaritmizált formában ($\log_{10}$ cfu/ml) adtuk meg.

A *Lb. bulgaricus* élősejt-számának lemezöntéses meghatározásához 5,4-es pH-értékű MRS agart (Oxoid) alkalmaztunk. Az inokulált agarlemezeket 37°C-on, 72 órán át inkubáltuk 2,5 l-es anaerob edényekben (Oxoid) (IDF, 1997; Süle és mtsai, 2014). A légköri oxigént AnaeroGen AN 25 tasakok (Oxoid) segítségével kötöttük meg, az O₂-szint csökkenését pedig az anaerob edénybe helyezett anaerob indikátorral (Oxoid) ellenőriztük. A *Lb. bulgaricus* azonosítása is telepmorfológia alapján történt, fénymikroszkópos megerősítéssel (Zeiss KF 2; Carl Zeiss). A tipikus telepek lencse alakúak, 1-3 mm átmérőjűek (IDF, 1997), a tipikus sejtek pedig Gram-pozitív festődésű, mozdulatlan, endospórát nem képző, lekerekített végű, többnyire rövid, néha azonban hosszabb pálcák voltak (IDF, 1997; Robinson, 2011b). A telepképző egységek számát ez esetben is logaritmizált alakban ($\log_{10}$ cfu/ml) közöltük.

Az élesztőgomba- és penészgomba-szám lemezöntéses meghatározása YGC agaron (Merck) történt, melynek pH-értéke a sterilizést követően $6,6 \pm 0,1$ volt (25°C-on). Az inokulált agarlemezeket 25°C-on, 5 napig inkubáltuk (Magyar Szabványügyi Testület, 1999).

A mintákban potenciálisan előforduló kóliform baktériumok, ill. *E. coli* élősejt-számának meghatározására a 3-csöves MPN módszert alkalmaztuk, a 3.5.4.5. alfejezetben leírtak szerint.

3.6.6. Matematikai–statisztikai értékelés

Az élősejt-szám eredmények varianciaanalízisét a STATISTICA 6.1 számítógépes adatelemző programcsomag (StatSoft) segítségével végeztük el az általános lineáris modell szerint. Az átlagértékek közötti eltérések szignifikáns, ill. nem szignifikáns voltát a Duncan-féle többszörös összehasonlító vizsgálat segítségével állapítottuk meg, 95%-os valószínűségi szinten (StatSoft).

3.7. Teve- és tehéntejből előállított, mézzel kiegészített ABT-típusú savanyú tejtermékek hasznos mikrobiotájának hűtve tárolás alatti túlélése

3.7.1. Alapanyagtejek

A tevetéjet ezúttal is a dubaji EICMP cég juttatta el légi úton, hűtött körülmények között (0-8°C) Mosonmagyaróvárra. Az alapanyagot a fejestől számított 48 órán belül feldolgoztuk. A nyers tehéntejet a Lajta-Hanság Zrt.-től (Mosonmagyaróvár) szereztük be. A tejtételek zsír-, fehérje-, laktóz- és szárazanyag-tartalmát az MTKI Kft. (Mosonmagyaróvár) vizsgálta meg MilkoScan Minor 4 műszerrel (Foss Analytical); az aerob mezofil mikroorganizmus-számot (ISO, 2013), az élesztőgomba- és penészgomba-számot (ISO, 2008), továbbá az *Enterobacteriaceae*-számot (ISO, 2004) pedig az NymE-MÉK Élelmiszer-tudományi Intézetének akkreditált mikrobiológiai laboratóriumában határoztuk meg. Az eredmények a **3.7. táblázat**ban láthatók.

3.7. táblázat: A savanyú tejtermékek alapanyagául felhasznált nyers tejek beltartalmi összetétele és mikrobiológiai minősége

Paraméter	Tevetej	Tehéntej
Zsírtartalom (g/100 g)	2,31	3,71
Fehérjetartalom (g/100 g)	2,85	3,25
Tejcukor-tartalom (g/100 g)	4,38	4,57
Zsírmentes szárazanyag-tartalom (g/100 g)	7,99	8,50
Szárazanyag-tartalom (g/100 g)	10,30	12,21
Víztartalom (g/100 g)	89,70	87,79
Aerob mezofil mikroorganizmus-szám (cfu/ml)	$7,3 \times 10^3$	$4,8 \times 10^3$
Élesztőgomba-szám (cfu/ml)	$< 1,0 \times 10^0$	$< 1,0 \times 10^0$
Penészgomba-szám (cfu/ml)	$< 1,0 \times 10^0$	$< 1,0 \times 10^0$
<i>Enterobacteriaceae</i> -szám (cfu/ml)	$< 1,0 \times 10^0$	$< 1,0 \times 10^0$

3.7.2. Méz

Az akácmézet ez alkalommal egy kisbodaki méztermelőtől szereztük be. A kísérletek kezdete előtt megvizsgáltuk a felhasználandó méztétel mikrobiológiai jellemzőit. Eredményeinket a **3.8. táblázat** szemlélteti.

3.8. táblázat: A kísérletben felhasznált akácméz mikrobiológiai minősége

Mikrobacsoport	Eredmény
Aerob mezofil mikroorganizmus-szám (cfu/g)	$8,0 \times 10^0$
Élesztőgomba-szám (cfu/g)	$< 1,0 \times 10^0$
Penészgomba-szám (cfu/g)	$< 1,0 \times 10^0$
Mezofil szulfitredukáló klosztridiumok száma (cfu/g)	$< 1,0 \times 10^0$
<i>Salmonella</i> spp. (25 g-ban)	Negatív

3.7.3. Kultúra

A hőkezelt, majd 40°C-ra lehűtött alapanyagtejek beoltására liofilezett ABT-5 DVS kultúrát (Chr. Hansen) használtunk, 0,2 U/l (2,0%) koncentrációban, melynek gyártó által deklarált minimális élősejt-száma $5,0 \times 10^{10}$ cfu/g volt.

3.7.4. Termékgyártás és tárolás

Két-két liter nyers teve- és tehéntejet 90°C-on 10 percig hőkezeltünk Pearl M típusú vízfürdős hőkezelő medencében (Julabo Labortechnik), majd 40°C-ra

lehűtöttünk. Mindkét tejtétel feléhez (1-1 l-hez) 5% akácmézet adagoltunk. A másik két egység teve-, ill. tehéntej (1-1 l) töltötte be a kontroll szerepét, ezeket nem egészítettük ki akácmézzel. A mézes és a kontroll tejet egyaránt beoltottuk 0,2 U/l ABT-5 DVS kultúrával (Chr. Hansen). Ez az inokulum-mennyiség megegyezett az üzemi körülmények között a tanktejhez adandó 2%-os tömegkultúra koncentrációval. A tejet 37°C-on fermentáltuk addig, amíg a pH-juk el nem érte a 4,6-es értéket. A további savanyodást gyors, jeges vizes hűtéssel akadályoztuk meg. Aszeptikus körülmények között mind a négy termékből 18-18 db egységet adagoltunk ki steril, jól zárható, 50 ml-es centrifugacsövekbe (Greiner Bio-One). Egynapos, 8°C-os előhűtéssel érleltük a termékeket, végül 4°C-on, hűtőszekrényben tároltuk a mintákat. Kísérleteinket két ismétléssel végeztük.

3.7.5. Mikrobiológiai vizsgálatok

A gyártást követő 0., 7., 14., 21., 28. és 35. napon mind a négy termékből elővettünk 3-3 db mintát és a 3.5.4. alfejezetben ismertetettek szerint meghatároztuk a kultúrából származó hasznos mikroorganizmusok (*Lb. acidophilus*, *B. animalis* subsp. *lactis*, *Strep. thermophilus*), valamint az esetlegesen jelenlévő szennyező, ill. kórokozó mikrobák (élesztő- és penészgombák, *E. coli* és kóliformok) élősejtszámaikat.

3.7.6. Matematikai–statisztikai értékelés

Az élősejt-szám eredmények matematikai–statisztikai értékelését a STATISTICA 9.0 számítógépes adatelemző programcsomag (StatSoft) segítségével végeztük el az általános lineáris modell szerint. Az átlagértékek közötti eltérések szignifikáns, ill. nem szignifikáns voltát a Duncan-féle többszörös összehasonlító vizsgálat segítségével állapítottuk meg, 95%-os valószínűségi szinten (StatSoft).

3.8. Oligofruktóz és inulin hatása egy ABT-típusú savanyú tejtermék hasznos mikrobiotájának hűtve tárolás alatti alakulására

3.8.1. Alapanyagtej

Az alapanyag 8 × 1 l, instant sovány tejporból (Friesland) visszaállított, 12% szárazanyag-tartalmú tej volt.

3.8.2. Oligofruktóz és inulin

A 90°C-on 10 percig végzett hőkezelés előtt 1,0%, 3,0%, ill. 5,0% (g/100 ml) mennyiséget kevertünk be 3 × 1 l tejbe a Raftilose P95 márkanévű, minimum 93% oligofruktóz-tartalmú termékből (Orafti, Tienen, Belgium) és ugyanilyen mennyiségeket további 3 × 1 l tejtételbe a Raftiline GR márkanévű, 90% feletti inulintartalmú termékből (Orafti). A Raftilose P95 és a Raftiline GR gyártó által közölt összetételi adatait a **3.9. táblázat** mutatja. A megmaradt egységek (2 × 1 l) töltötték be a kontroll szerepét, ezekhez nem adagoltunk se oligofruktózt, se inulint.

3.9. táblázat: A Raftilose P95 és a Raftiline GR összetétele (%)

Összetevő	Raftilose P95	Raftiline GR
Oligofruktóz	≥ 93,2	–
Inulin	–	≥ 90,0
Glükóz + fruktóz + szacharóz	< 6,8	< 10,0
Szárazanyag	97,0 ± 1,5	97,0 ± 1,5
Szénhidrát	> 99,5	> 99,5
Hamu (szulfatált)	< 0,2	< 0,2

3.8.3. Kultúra

A leírt módon előkészített alapanyagtejeket a hőkezelést követően 40°C-ra hűtöttük vissza és 0,2 U/l (2,0%) koncentrációban beoltottuk liofilezett ABT-5 DVS kultúrával (Chr. Hansen).

3.8.4. Termékgyártás, tárolás és mikrobiológiai vizsgálatok

Az inkubálás 37°C-on történt 6 órán keresztül, 4,6-es pH-érték eléréséig. Ezután gyors, jeges vizes hűtés következett 15°C-ra. Mind a nyolc termékből 21-21 egységnyi adagoltunk ki 30 ml-es, steril, jól zárható centrifugacsövekbe (Sarstedt). Egnapos, 8°C-os előhűtést követően a mintákat hűtőszekrénybe helyeztük és 4°C-on tároltuk, majd 0, 7, 14, 21, 28, 35 és 42 nap elteltével három-három egységet elővettünk és meghatároztuk a **3.10. táblázat**ban feltüntetett mikroorganizmusok élősejt-számait.

3.10. táblázat: Mikroorganizmusok élősejt-számának meghatározása

Mikroorganizmus (csoport)	Módszer	Tápközeg	Inkubációs		
			körülmények	idő (óra)	hőfok (°C)
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Lemezöntés	M17 agar (Oxoid)	Aerob	48	37
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Lemezöntés	MRS-maltóz agar (Chr. Hansen A/S, 1995)	Anaerob [✱]	72	37
<i>Bifidobacterium lactis</i> *	Lemezöntés	MRS agar (Oxoid) + NNLP [†]	Anaerob [✱]	120	37
Élesztő- és penészgombák	Lemezöntés	YGC agar (Merck)	Aerob	120	25
Kóliformok	MPN	BBL tápleves (Oxoid)	Aerob	24-48	37
[<i>Escherichia coli</i>]		[+ triptofán és MUG [‡]]			

[✱] Oxoid anaerob edények (2,5 L) és AnaeroGen AN 25 tasakok használatával

* *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*

[†] 0,015 g/l nalidixsav + 0,1 g/l neomicin-szulfát + 0,3 g/l lítium-klorid + 0,125 g/l paromomicin-szulfát (Sigma)

[‡] 4-metilumbelliferil-β-D-glükuronid (Oxoid)

3.8.5. Matematikai–statisztikai értékelés

Az oligofruktóz-, ill. az inulin-kiegészítés élősejt-számokra gyakorolt hatását a STATISTICA 4.5 és 6.1 adatelemző programcsomagok (StatSoft) *t*-próbájának segítségével vizsgáltuk, 95%-os szignifikancia szinten.

3.9. *Arthrospira platensis* (Spirulina) biomassza hatása egy ABT-típusú savanyú tejtermék hasznos mikrobiotájának tárolás alatti alakulására**3.9.1. Alapanyagtej**

Négy liter 3,6% zsírtartalmú UHT tejet használtunk alapanyagul, amelyet két egyenlő részre osztottunk, ezeket kiegészítettük 20-20 g sovány tejporral (1%), majd

90°C-on 10 percig hőkezeltük, hogy a savófehérjék hődenaturációja nagyobb mértékű legyen (Kessler, 1988a).

3.9.2. Kultúra

A kísérlethez felhasznált színtenyészet ezúttal ABT-4 jelű fagyasztva szárított DVS kultúra (Chr. Hansen) volt, amely *Lactobacillus acidophilus* La-5 (A), *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 (B) és *Streptococcus thermophilus* (T) törzseket tartalmazott (Chr. Hansen A/S, 2001).

3.9.3. *Arthrospira platensis* (Spirulina) biomassza

A porlasztva szárított Spirulina (*Arthrospira platensis* Hau) biomasszát a Bergholz-Rehbrücke-i Gabonakutató Intézettől [Institut für Getreideverarbeitung (IGV); Bergholz-Rehbrücke, Németország] kaptuk. Főbb komponenseit és azok koncentrációját a **3.11. táblázat** szemlélteti.

3.11. táblázat: A Spirulina biomassza (szárított *Arthrospira platensis*) főbb összetevőinek koncentrációja

Összetevő	Mennyiség (g/100 g)
Szárazanyag	94,1
Fehérje	57,6
Összes lipid	11,1
Hamu	11,4

3.9.4. Termékgyártás és tárolás

Az inkubációs hőfok közelébe (42°C-ra) visszahűtött 2 × 2 l tejet 0,2 U/l (2,0%) koncentrációban beoltottuk a liofilezett ABT-4 DVS kultúrával (Chr. Hansen). A fermentáció 6 órán keresztül, 40°C-on zajlott. A spirulinás termék esetében 4,6-es pH-értéken, a habarással egyidejűleg került sor az *A. platensis* biomassza bekeverésére az egyik 2 l-es terméktételbe. A Spirulina biomasszát 3 g/l (0,3%) mennyiségben alkalmaztuk, mert korábbi munkáinkban megállapítottuk, hogy ez a már hatékony és ökonómiai, ill. érzékszervi szempontból még tolerálható biomassza koncentráció (Springer és mtsai, 1998; Varga, 1999). Ezután gyors, jeges vizes hűtés következett 25°C-ra. Mindkét termékből (Spirulinával kiegészített, ill. natúr) 40 egységnyi adagoltunk ki 50 ml-es, steril, jól zárható centrifugacsövekbe (Sarstedt). Egynapos (24 órás), 8°C-on végzett előhűtést követően mindkét termék mintáinak felét hűthető-fűthető termosztátba helyeztük 15°C-ra, másik felüket pedig hűtőszekrénybe, 4°C-ra. Kísérleteinket három ismétléssel hajtottuk végre.

3.9.5. Mikrobiológiai vizsgálatok

A 15°C-on tárolt spirulinás és natúr (kontroll) termékekből 0, 3, 6, 9, 12, 15, ill. 18 napos korban, míg a hűtőszekrényben tartott mintákból 0, 7, 14, 21, 28, 35, ill. 42 nap elteltével elővettünk három-három egységet, és a 3.8.4. alfejezetben ismertetettek szerint meghatároztuk a kultúrából származó hasznos mikroorganizmusok (*Lb. acidophilus*, *B. animalis* subsp. *lactis*, *Strep. thermophilus*), valamint az esetlegesen jelenlévő szennyező, ill. kórokozó mikrobák (élesztő- és penészgombák, *E. coli* és kóliformok) élősejt-számaikat (**3.10. táblázat**). Megjegyzést érdemel, hogy a 0. napon nem 2 × 3 db, hanem összesen csak 1 × 3 db spirulinás és

ugyanennyi kontroll mintát vettünk, mert eddig az időpontig nem különbözött a tételek "tárolási" hőmérséklete.

3.9.6. Matematikai–statisztikai értékelés

A Spirulina-kiegészítés élősejt-számokra gyakorolt hatását a STATISTICA 4.5 adatelemző programcsomag (StatSoft) *t*-próbájának segítségével vizsgáltuk meg, 95%-os szignifikancia szinten.

3.10. Spirulinás aludttej kifejlesztése és a Spirulina biomassza hatása a mezofil starterbaktériumokra a savanyú tejtermék hűtve tárolása során

3.10.1. A Spirulina biomassza mikrobiológiai állapotának ellenőrzése

Vizsgálataink kezdetén, a csomagolás megbontásakor, ellenőriztük az *A. platensis* biomassza (Natésis sarl, Bourges, Franciaország) mikrobiológiai állapotát az Európai Gyógyszerkönyv (Pharmacopoeia Europaea) ajánlása szerint (Kneifel és mtsai, 2002). A *Salmonella* spp. jelenlét–hiány kimutatási vizsgálatok (Bundesgesundheitsamt, 2004b) mellett aerob mezofil mikroorganizmus-szám (Bundesgesundheitsamt, 2004a), élesztőgomba- és penészgomba-szám (Bundesgesundheitsamt, 1991), *Enterobacteriaceae*-szám (Bundesgesundheitsamt, 1990), *E. coli*-szám (Bundesgesundheitsamt, 1992) és koaguláz-pozitív *Staphylococcus*-szám (Bundesgesundheitsamt, 2004c) meghatározásokra került sor.

3.10.2. A mezofil tejsavbaktériumok savtermelésének és sejtszám-változásának nyomon követése modell tejtápközegben

Alapanyagul Delvotest SP MINI készülékkel (Gist-Brocades, Delft, Hollandia) ellenőrzött antibiotikum-mentes, homogénezett UHT-tejet használtunk, amely 28 g/l zsírt, 34 g/l fehérjét, 47 g/l laktózt és 7 g/l ásványi anyagot tartalmazott. A tejet 10 percig 90°C-on hőkezeltük, mielőtt visszahűtöttük beoltási hőmérsékletre, hogy biztosítsuk a savófehérjék megfelelő mértékű denaturációját (Kessler, 1988a,b). A vizsgálatokhoz felhasznált tejsavbaktérium törzsek a **3.12. táblázat**ban láthatók.

3.12. táblázat: A kísérletek során alkalmazott tejsavbaktérium törzsek

Tejsavbaktérium	Törzs száma, kultúra jelzése	
	NCAIM ^{✱✱}	ATCC [*]
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	B.2125	
	B.2128	
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> var. <i>diacetylactis</i>	B.2122	11007
	B.2123	20661
	B.2126	13675
	B.2127	
		14365
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	B.2124	19257
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i>	B.2120	19254
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>dextranicum</i>	B.1658	19255

✱✱ Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteménye (National Collection of Agricultural and Industrial Microorganisms)

* American Type Culture Collection

A dupla ampullás, vákuumozott, fagyasztva szárított *Lactococcus* és *Leuconostoc* törzseket aszeptikus körülmények között rehidratáltuk (0,3 ml fiziológias

sóoldatban), majd laktózt tartalmazó MRS (MRS-L) táplevesbe és táptalajra oltva, 30°C-on 48 óráig inkubáltuk. A törzseket eleinte -70°C alatti hőmérsékleten, ultra-mélyfagyasztoóban (U 41085; New Brunswick Scientific, New Brunswick, NJ, USA), 30% glicerint tartalmazó steril Eppendorf csövekben, majd felületkezelt gyöngyöket tartalmazó fiolákban (Microbank; Pro-Lab Diagnostics, Toronto, Kanada) tároltuk. A kísérletek megkezdése előtt hagytuk kiolvadni a csövek tartalmát, ill. kivettünk egy-egy gyöngyöt és 10 ml MRS-L levesben tenyésztettük 24 órán át, 30°C-on, majd 1 ml baktérium-szuszpénzióval áttöltést végeztünk 10 ml UHT tejbe és a kémcsöveket 24 órán keresztül 30°C-on inkubáltuk. A kísérletekhez minden esetben 24 órás tenyészeteket használtunk.

Korábbi vizsgálataink során meghatároztuk a mezofil tejsavbaktériumok (*Lc. lactis* subsp. *lactis* Ha-2 és *Lc. lactis* subsp. *cremoris* W-24) savtermelését érdemlegesen serkentő Spirulina koncentrációt, és azt tapasztaltuk, hogy a 0,1-0,8%-os mennyiségben adagolt *A. platensis* biomassza stimulálta ($P < 0,05$) a laktokokkuszok savtermelő aktivitását a fermentációs folyamat 6. és 12. órája között (Molnár és mtsai, 2005). Ennek alapján – érzékszervi és gazdaságossági szempontokat is figyelembe véve – a Spirulina biomassza 0,3%-os koncentrációban történő felhasználása mellett döntöttünk.

A kontroll, ill. a 3 g/l Spirulinával kiegészített tejtételeket a **3.12. táblázatban** feltüntetett mezofil tejsavbaktérium törzsek 1-1%-os inokulumaival oltottuk be. A fermentáció GFL 1003 típusú, 30°C-ra beállított vízfürdőben (Gesellschaft für Labortechnik, Burgnedel, Németország) történt. A kezelések három párhuzamos beállítása mellett, két ismétlésben zajlottak. Kétóránként történt pH-mérés Hanna HI 8521 típusú hőmérséklet-kompenzációs pH-mérővel (Hanna Instruments Deutschland, Karlsruhe, Németország), amelyet a mérés előtt 7,01-os és 4,01-os pH-jú standard puffer oldatokkal (Merck) kalibráltunk.

A *Lactococcus* törzsek szaporodási ütemének (sejtszám-változásainak) nyomon követésére irányuló kísérlet beállítása az előző bekezdésben leírtak szerint történt, tehát a 3 g/l Spirulina biomasszával kiegészített tejtételeket, valamint a kontroll tejeiket 1-1%-os mennyiségben beoltottuk a kiválasztott *Lactococcus*-törzsekkel és behelyeztük 30°C-ra beállított vízfürdőbe (GFL 1003; Gesellschaft für Labortechnik). A kezeléseket ezúttal is három párhuzamossal és két ismétlésben hajtottuk végre. A fermentáció 0., 6. és 12. órájában mintákat vettünk, majd lemezöntéses módszerrel, M17 táptalajon (Merck), 30°C-on, 72 órán át tartó aerob inkubációval meghatároztuk a laktokokkuszok élősejt-számaikat.

3.10.3. Mezőfil tejsavbaktériumok és Spirulina biomassza felhasználásával készülő ízesített savanyú tejtermék kifejlesztése

Az *A. platensis* biomassza által legnagyobb mértékben serkentett törzsek felhasználásával, 0,3% Spirulina-kiegészítést (Natésis), 10% szacharóz-adagolást és 1,5% eper–kivi ízesítést (Esarom Essenzenfabrik, Oberrohrbach, Ausztria) alkalmazva kidolgoztuk egy mezofil savanyú tejtermék (aludttej) gyártástechnológiáját.

3.10.4. Spirulina biomassza hatása a mezofil tejsavbaktériumokra a kifejlesztett savanyú tejtermék hűtve tárolása során

A tárolási kísérlethez szükséges kontroll, ill. Spirulinával kiegészített aludttej-termékek az MTKI Kft. mosonmagyaróvári üzemében készültek. Az alapanyagul

használt, Delvotest SP MINI készülékkel (Gist-Brocades) ellenőrzöten antibiotikummentes nyers tej (3 l) literenként 36,5 g zsírt, 31,5 g fehérjét, 47 g laktózt és 7 g hamut tartalmazott. A tejet felhasználás előtt 90°C-on 10 percig hőkezeltük, és miután a hőmérséklete 40°C alá csökkent, fele mennyiségében (1,5 l) csomómentesen elkevertünk 4,5 g Spirulina port. Az alapanyag-tételeket (2 × 1,5 l) ezután 180 bar (18 MPa) nyomáson, 70°C-os hőmérsékleten homogéneztek egy 250 l/h kapacitású dugattyús homogénező berendezéssel (Rannie, Koppenhága, Dánia), majd visszahűtöttük őket az inokulálás hőmérsékletére.

Az aludttejek készítéséhez *Lc. lactis* subsp. *lactis* NCAIM B.2128 és *Lc. lactis* subsp. *cremoris* ATCC 19257 törzs kevert tenyészetét alkalmaztuk 1-1%-os (v/v) mennyiségben. Az inkubáció 12 órán át tartott, 30°C hőmérsékletre beállított vízfürdőben (GFL 1003; Gesellschaft für Labortechnik), majd a kontroll, ill. a Spirulinával kiegészített savanyú tejtermékhez is hozzáadtunk 10% szacharózt és 1,5% aromaanyagot (Esarom Essenzenfabrik). A cukor oldódásáig habart termékek 2 × 21 db steril, csavaros kupakkal zárható centrifugacsőbe (50 ml) kerültek. A csöveket 6 héten keresztül hűtőszekrényben tároltuk, 4°C-on.

A hűtve tárolás 0., 7., 14., 21., 28., 35. és 42. napján egyenként 3 db kontroll és 3 db Spirulina-tartalmú mintát vizsgáltunk meg. A mezofil tejsavbaktériumok telepszámlálását az MSZ ISO 15214 jelű magyar szabvány (Magyar Szabványügyi Testület, 2005) előírásai szerint végeztük. Ennek értelmében M17 táptalajt (Merck) alkalmaztunk a lemezöntéses eljárás során. A tápközeg pH-ja $6,9 \pm 0,1$ volt. A lemezeket 30°C-on 72 órán át inkubáltuk aerob körülmények között. Megerősítés céljából, lemezenként 5-5 telepet Gram-festésnek és kataláz-próbának vetettünk alá. Minden egyes mintának megmértük a pH-értékét is. A kísérletet két ismétlésben hajtottuk végre.

3.10.5. Matematikai–statisztikai értékelés

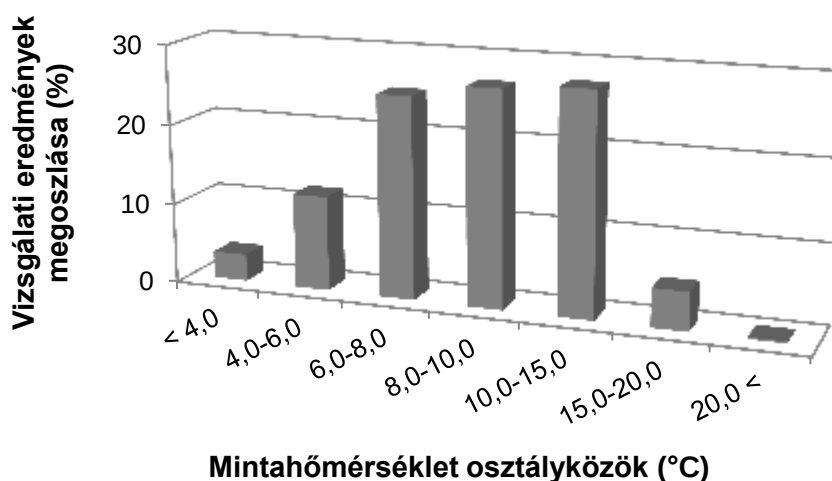
A Spirulina biomasza laktokokkuszok élősejt-számára és savtermelésére gyakorolt hatását a STATISTICA 6.1 és 8.0 adatelemző programcsomagok (StatSoft) *t*-próbájának segítségével vizsgáltuk meg, 95%-os szignifikancia szinten.

4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

4.1. Közvetlenül értékesített termelői nyers tehéntej mikrobiológiai–higiéniai minősége

4.1.1. Mintahőmérséklet

A nyers tej minták hőmérsékletének mérése révén a mikrobiológiai minőség alakulását nagymértékben befolyásoló hűtés hatékonyságát és a hűtlánc folytonosságát vizsgáltuk. Mivel két mintavételi pont – az eladók bevallása szerint – frissen fejt, még “tőgyemeleg” tejet árusított, esetükben a minták hőmérsékletét nem mértük meg. A hűtetlen minták hőmérsékleti adatait azért sem lehetett volna összevetni a vonatkozó joganyagban rögzített határértékekkel, mert a kistermelői rendelet értelmében 2 órát meg nem haladó tárolás esetén nem szükséges hűteni a tejet (FVM, 2010). A vizsgálat során feljegyzett hőmérsékleti eredmények gyakorisági megoszlását a **4.1. ábra** foglalja össze.



4.1. ábra: A hőmérséklet-vizsgálati eredmények gyakorisági megoszlása ($n = 413$)

Tejmintáink több mint negyedének (28%) a hőmérséklete 10-15°C között alakult, amely a tárolás időtartamától és a mikrobiota jellegétől függően a pszichrotróf és a mezofil mikrobák szaporodásának kedvezett. Közel azonos arányban fordultak elő mérési eredmények a 8-10°C és a 6-8°C tartományban is (rendre 27%, ill. 25%). A biztonságos tárolás határértékeként ismert 4°C-nál kisebb hőmérsékleti eredmények aránya alig haladta meg a 3%-ot, míg a 8°C alatti hőmérsékleti eredmények összesített aránya 40% volt. Összesen 413 db minta hőmérsékletét mértük meg, ezek főátlaga 9,18°C ($\pm 3,27^\circ\text{C}$).

A minták egyedi hőmérsékleti eredményei az eladók többségénél tág határok között alakultak (1,5-20,2°C). Az egyes értékesítési pontokon vett tejminták hőmérsékleti átlagértékeit a **4.1. táblázat** szemlélteti. Összesen hat értékesítési pont (32%) tejhőmérsékleti átlagértéke volt besorolható a 8°C alatti tartományba, míg a 15°C hőmérsékletet egyetlen eladó tejének átlagértéke sem haladta meg. Lényeges körülmény, hogy a legkisebb, 8°C alatti tejhőmérsékleti átlagértékkel rendelkező

értékesítési pontok esetében is találoztunk kiugróan nagy egyedi hőmérsékleti eredményekkel, amely kérdéseket vet fel a hűtlánc hatékonyságát és a hűtési fegyelmet illetően. Az egyes értékesítési pontok tejhőmérsékleti szélsőértékeinek vizsgálata alapján megállapítható, hogy a minimumértékek két esetben még a 10°C-ot is meghaladták, míg a maximumértékek közül az összes elérte a 9°C-ot, azok többnyire 10-20°C között alakultak.

Az automatákból (9., 10. és 13. sorszámú mintavételi pontokról) származó nyers tej mintáink átlagos hőmérséklete 7,5-9,6°C között alakult. Angelidis és mtsai (2016) ezeknél 2-3°C-kal kisebb átlagértékekről (5,4-6,5°C) számoltak be görögországi automatákból vett pasztörözött tehéntej minták vizsgálata nyomán.

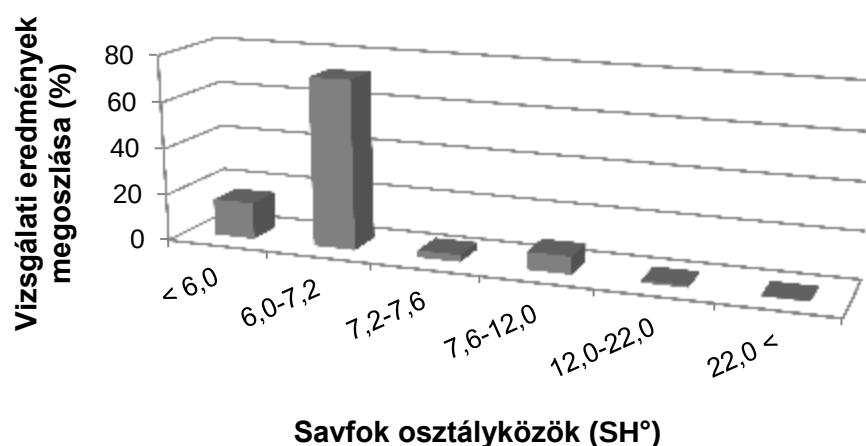
4.1. táblázat: Az egyes értékesítési pontokon vett minták hőmérsékleti eredményei (°C)

Eladó azonosítója	Átlag* ± szórás	Szélsőérték	
		Minimum	Maximum
1.	8,6 ± 1,7	5,3	19,5
2.	8,2 ± 1,1	5,9	12,3
3.	6,9 ± 0,9	5,6	9,0
4.	11,4 ± 2,0	6,8	14,9
5.	–	–	–
6.	–	–	–
7.	9,0 ± 3,1	3,7	15,7
8.	10,4 ± 3,4	4,9	17,8
9.	8,1 ± 1,5	5,9	14,8
10.	7,5 ± 1,0	5,6	9,4
11.	9,1 ± 2,1	5,5	17,3
12.	9,2 ± 2,0	5,5	14,5
13.	9,6 ± 0,9	8,5	13,7
14.	7,5 ± 1,1	5,8	11,1
15.	13,4 ± 2,2	10,2	18,5
16.	11,8 ± 2,7	8,1	17,9
17.	6,5 ± 1,2	5,2	9,6
18.	10,3 ± 4,0	3,5	20,2
19.	7,4 ± 2,9	3,8	12,1
20.	14,6 ± 3,4	11,5	19,6
21.	5,3 ± 2,1	1,5	16,7

* Kiugró értékek kizárásával képzett átlagok

4.1.2. Savfok

A hazai élelmiszer-szabályozás a közvetlenül értékesített nyers tej esetében nem állapít meg teljesítendő savfok tartományt, és ilyen adatok a hazai nyers tej minősítő adatbázisban sem találhatók, az osztályköz határokat ezért szakmai szempontok alapján jelöltük ki. A vizsgálati eredmények gyakorisági megoszlását a **4.2. ábra** szemlélteti.



4.2. ábra: A savfok-vizsgálati eredmények gyakorisági megoszlása (n = 436)

A **4.2. ábrán** bemutatott elemi mérési eredmények többsége (72%) a friss nyers tej savfokának megfelelő 6,0-7,2°SH tartományba esett. Ezt alátámasztja a 436 db minta savfok-vizsgálati eredményének főátlagja is ($6,68 \pm 1,55^\circ\text{SH}$). A vizsgált minták savfok eredményeinek 28%-a utalt valamilyen rendellenességre, ezeknek közel fele (12%) savanyú elváltozást mutatott. Hasonló állapotot szemléltet a **4.2. táblázat**. A bemutatott savfok átlagértékek 86%-a (18 eladó) volt megfelelő, és csupán egy eladó (5%) forgalmazott savanyodásnak indult tejet rendszeresen. A szélsőértékek tág határok között mozogtak ($2,68\text{-}27,60^\circ\text{SH}$). A kis értékeknél súlyos tőgyegészségügyi problémák, esetleg öregfejlőség vagy vizezés valószínűsíthetők, míg a nagyok előrehaladott savanyodási folyamatokra utalnak.

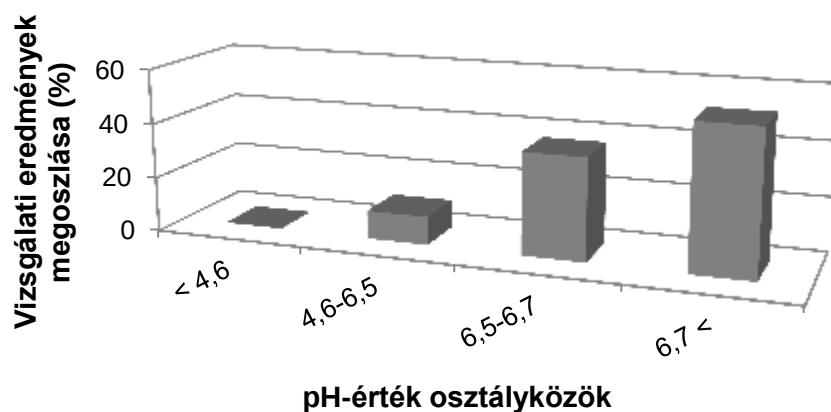
4.2. táblázat: Az egyes értékesítési pontokon vett minták savfok eredményei (°SH)

Eladó azonosítója	Átlag* $\pm$ szórás	Szélsőérték	
		Minimum	Maximum
1.	6,48 $\pm$ 0,66	5,80	13,40
2.	6,51 $\pm$ 0,44	5,92	9,80
3.	6,50 $\pm$ 0,67	5,60	11,20
4.	6,53 $\pm$ 0,16	6,08	7,00
5.	7,99 $\pm$ 3,67	2,68	27,60
6.	6,81 $\pm$ 0,53	5,84	8,00
7.	6,48 $\pm$ 0,67	5,40	10,00
8.	6,38 $\pm$ 0,24	5,40	7,20
9.	6,41 $\pm$ 0,36	5,84	7,40
10.	6,34 $\pm$ 0,33	5,80	7,60
11.	6,35 $\pm$ 0,23	5,00	6,80
12.	6,32 $\pm$ 0,21	6,00	7,20
13.	6,41 $\pm$ 0,18	6,12	7,40
14.	6,41 $\pm$ 0,22	6,04	6,80
15.	7,11 $\pm$ 1,05	6,00	11,00
16.	6,47 $\pm$ 0,39	6,00	7,80
17.	6,88 $\pm$ 0,56	6,00	8,40
18.	5,93 $\pm$ 0,65	4,72	8,20
19.	6,14 $\pm$ 0,24	5,60	8,56
20.	5,70 $\pm$ 0,44	4,92	6,70
21.	6,74 $\pm$ 0,27	6,40	7,40

* Kiugró értékek kizárásával képzett átlagok

4.1.3. pH-érték

A savfokhoz hasonlóan – hazai joganyagban rögzített határértékek hiányában – a pH-osztályköz határokat is szakmai szempontok alapján jelöltük ki. Minthogy a 6,5-nél kisebb pH-értékek már a tej savanyodási folyamataira utalnak, az elfogadható tartományt 6,5 és 6,7 között jelöltük ki. Az eredményeket a **4.3. ábrán** mutatjuk be.



4.3. ábra: A pH-vizsgálati eredmények gyakorisági megoszlása (n = 492)

Az elemi mérési eredményeknek csupán alig több mint egyharmada (37%) esett a friss tejre jellemző, 6,5-6,7 pH-érték tartományba. A savanyodási folyamatokat jelző 4,6-6,5 pH-érték tartományba a mért adatok 10%-a tartozott. A vizsgált minták többsége (52%) ugyanakkor 6,7-et meghaladó pH-értékkal rendelkezett. Az egyes értékesítési pontokon vett minták pH-érték átlagait és a vonatkozó szélsőértékeket a **4.3. táblázat** szemlélteti. Az átlagok megoszlása az egyedi vizsgálati eredményekhez hasonlóan alakult, azok 38%-a (nyolc eladó) esett a 6,5-6,7 pH-érték tartományba. A vizsgálati eredmények 5,71 és 7,10 pH között alakultak, míg a 492 db minta pH-vizsgálati eredményének főátlagja 6,67 ($\pm 0,17$) lett.

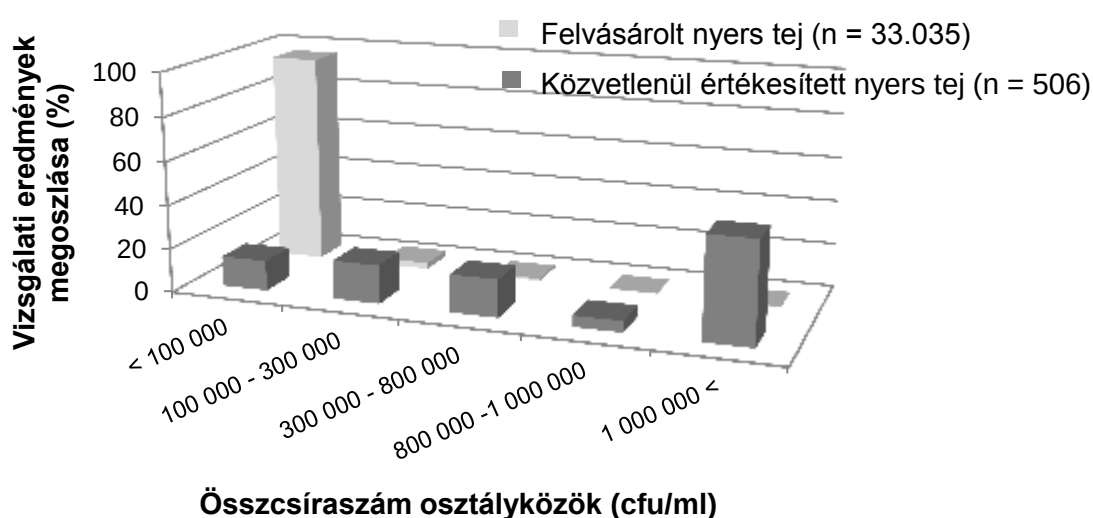
4.3. táblázat: Az egyes értékesítési pontokon vett minták pH eredményei

Eladó azonosítója	Átlag* $\pm$ szórás	Szélsőérték	
		Minimum	Maximum
1.	6,72 $\pm$ 0,09	5,99	6,91
2.	6,70 $\pm$ 0,09	5,97	6,82
3.	6,68 $\pm$ 0,11	5,94	6,85
4.	6,72 $\pm$ 0,09	6,52	6,86
5.	6,47 $\pm$ 0,36	5,71	7,10
6.	6,69 $\pm$ 0,10	6,52	6,88
7.	6,70 $\pm$ 0,13	6,18	6,96
8.	6,72 $\pm$ 0,07	6,49	6,85
9.	6,71 $\pm$ 0,12	6,49	6,91
10.	6,71 $\pm$ 0,09	6,20	6,84
11.	6,73 $\pm$ 0,07	6,53	6,85
12.	6,72 $\pm$ 0,07	6,52	6,87
13.	6,73 $\pm$ 0,11	6,53	6,88
14.	6,72 $\pm$ 0,07	6,55	6,91
15.	6,63 $\pm$ 0,15	6,13	6,89
16.	6,69 $\pm$ 0,11	6,00	6,89
17.	6,64 $\pm$ 0,13	6,35	6,86
18.	6,65 $\pm$ 0,18	6,21	6,86
19.	6,72 $\pm$ 0,08	6,43	6,88
20.	6,73 $\pm$ 0,07	6,49	6,86
21.	6,71 $\pm$ 0,06	6,50	6,84

* Kiugró értékek kizárásával képzett átlagok

4.1.4. Összcsíraszám

Az összcsíraszám vizsgálatok egyedi eredményeinek megoszlását a **4.4. ábra** illusztrálja. Az osztályközök értékhatárainak kialakításánál a hazai nyers tej minősítési rendszer vonatkozó értékhatárait vettük figyelembe. A felvásárolt tejtételek esetében az egyedi mikrobaszám-vizsgálati eredmények 96%-a teljesítette az extra kategória követelményét (≤ 100.000 cfu/ml), annak átlagos szintje 2013-ban 31.000 cfu/ml, 2014-ben pedig 35.000 cfu/ml körül alakult. Összehasonlításképpen, a közvetlenül értékesített tejminták vizsgálati eredményeinek mindössze 14%-a nem haladta meg a 100.000 cfu/ml határértéket. Súlyos higiéniai gondokra hívja fel a figyelmet az 1.000.000 cfu/ml-t meghaladó minták 46%-os részaránya – a legtöbb vizsgálati eredmény ebbe a csoportba tartozott.



4.4. ábra: Az összcsíraszám-vizsgálati eredmények gyakorisági megoszlása

A **4.4. táblázat**ban bemutatott átlagértékek az egyedi eredményeknél is kritikusabb helyzetre hívják fel a figyelmet. Tizenhat eladó (76%) tejének összcsíraszám átlaga az 1.000.000 cfu/ml határértéket is meghaladta, a legkisebb átlagok (két eladó, 10%) a 100.000-300.000 cfu/ml tartományba voltak besorolhatók. A szélsőértékek alapján, a minimális mikrobaszámok néhány ezres, vagy tízezres nagyságrendű eredményei nem ritkán 30.000.000 cfu/ml nagyságrendű eredményekkel társultak, amiből a tejnyerés és az elsődleges tejkezelés során, alkalmanként elkövetett hiányosságokra, ingadozó higiénés fegyelemre következtethetünk. Hasonló konklúziók vonhatók le a vizsgált időszak alatt keletkezett összes mérési eredmény főátlagáiból is: a nyers tej minősítés keretein belül megvizsgált 33.035 db minta főátlagára 31.000 cfu/ml volt, míg ugyanez az érték a közvetlenül értékesített tejminták (n = 506) esetében több mint százszoros, 3.195.144 cfu/ml szinten alakult. A gyűjtött elegytejénél lényegesen nagyobb, jellemzően 100.000 és 200.000 cfu/ml közötti csíraszám értékeket jegyeztek fel Tremonte és mtsai (2014), amikor tejautomatákból vett nyers tej minták mikrobaszámát vizsgálták. Zickrick és mtsai (1986) géppel fejt tej csíraszámát vizsgálva megállapították, hogy 10^3 - 10^4 cfu/ml nagyságrendű primer kontamináció elkerülhetetlen a gépi fejésnél. A tejnyerés, a tejkezelés és a tejtárolás higiéniai előírásainak betartása esetén az összes élősejt-szám 10^4 cfu/ml körül alakul. A nyers

tej 10^5 cfu/ml feletti induló összes élő mikrobaszáma komoly tejnyerési higiéniai hiányosságokat jelez, míg a 10^4 cfu/ml alatti összes élősejt-számú tej termelése jó higiéniai színvonalat tükröz.

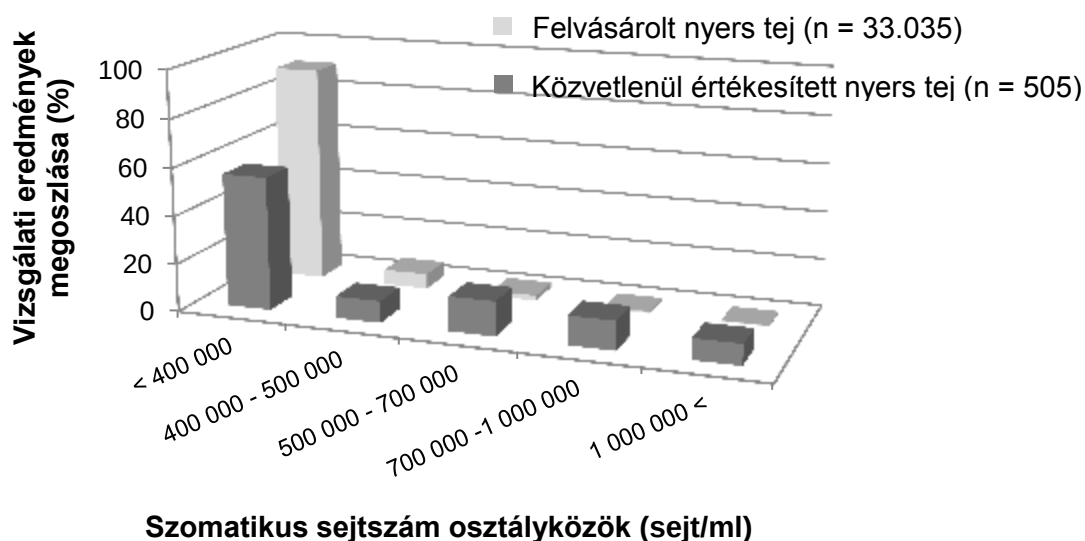
4.4. táblázat: Az egyes értékesítési pontokon vett minták összcsíraszama (cfu/ml)

Eladó azonosítója	Átlag* $\pm$ szórás	Szélsőérték	
		Minimum	Maximum
1.	2.864.043 $\pm$ 3.866.614	108.000	12.000.000
2.	1.650.600 $\pm$ 1.987.366	145.000	14.000.000
3.	3.141.174 $\pm$ 3.674.743	19.000	24.000.000
4.	1.190.458 $\pm$ 2.809.000	29.000	29.000.000
5.	14.715.960 $\pm$ 13.646.498	13.000	30.000.000
6.	1.400.391 $\pm$ 1.956.258	15.000	19.000.000
7.	2.134.375 $\pm$ 2.405.978	140.000	29.000.000
8.	664.217 $\pm$ 671.094	25.000	4.700.000
9.	2.133.412 $\pm$ 2.133.480	45.000	12.000.000
10.	1.355.000 $\pm$ 1.499.627	42.000	11.000.000
11.	249.783 $\pm$ 291.162	5.000	5.200.000
12.	290.875 $\pm$ 750.955	12.000	7.600.000
13.	2.137.200 $\pm$ 2.291.263	17.000	5.800.000
14.	636.400 $\pm$ 795.175	15.000	7.400.000
15.	4.307.958 $\pm$ 4.773.694	37.000	19.000.000
16.	2.186.083 $\pm$ 2.225.289	84.000	9.800.000
17.	4.876.680 $\pm$ 4.494.690	210.000	17.000.000
18.	7.235.714 $\pm$ 4.735.075	1.200.000	19.000.000
19.	1.923.280 $\pm$ 3.360.028	47.000	29.000.000
20.	1.895.000 $\pm$ 1.951.012	10.000	34.000.000
21.	907.652 $\pm$ 1.684.738	11.000	15.000.000

* Kiugró értékek kizárásával képzett átlagok

4.1.5. Szomatikus sejtszám

Az egyik legfontosabb tögyegészségügyi indikátor, a szomatikus sejtszám eredményei a **4.5. ábrán** láthatók. Jelentős különbség mutatkozott a két csoport között az extra tejminőségi kategória határértékét (400.000 sejt/ml) meg nem haladó mérési eredmények arányaiban: a közvetlenül értékesített nyers tej esetében az eredmények 56%-a tartozott ebbe a kategóriába, míg a felvásárolt tejnél ez az arány lényegesen nagyobb volt (91%). A közvetlenül értékesített tej szomatikus sejtszám eredményei a további, gyengébb minőséget jelző kategóriákban felülreprezentáltak voltak a felvásárolt tej eredményeihez képest. Különösen szembetűnők a különbségek a nagyobb sejtszám-tartományokban, ahol a 700.000-1.000.000 sejt/ml értékek között a vizsgálati eredmények 12%-a volt érintett, ami jelentősen meghaladta a felvásárolt tej vonatkozó adatát (0,6%). Az 1.000.000 sejt/ml feletti kategóriába a közvetlenül értékesített tej minták 8%-a tartozott, míg a vonatkozó részarány a felvásárolt tej esetében nem haladta meg a 0,3%-ot.



4.5. ábra: A szomatikus sejtszám-vizsgálati eredmények gyakorisági megoszlása

A **4.5. táblázat** adatai azt jelzik, hogy a szomatikus sejtszám átlagok a vizsgált 21 értékesítési pont közül 13 esetben (62%) nem haladták meg a 400.000 sejt/ml szintet. A további sejtszám kategóriák az elemi eredmények megoszlási diagramjához (**4.5. ábra**) hasonló képet mutattak azzal a különbséggel, hogy az 500.000-700.000 sejt/ml kategóriában itt öt eladási pont (24%) képviseltette magát, szemben az elemi eredmények 14%-os értékével. Egyetlen olyan mintavételi hely volt (5%), ahol az árusított tej szomatikus sejtszám átlaga az 1.000.000 sejt/ml szintet is meghaladta; ebből a vizsgált tejet szolgáltató állatállomány erősen kifogásolható főgyegészségügyi állapotára következtethetünk. A szomatikus sejtszám eredményeket is összesítettük a vizsgált időszak alatt képződött összes mérési eredmény főátlagainak szintjén: a nyers tej minősítés keretein belül megvizsgált 33.035 db minta főátlaga 274.000 sejt/ml volt, míg ugyanennek a paraméternek az értéke a közvetlenül értékesített tejminták (n = 505) esetében a jogszabályban rögzített határérték felett, 505.396 sejt/ml szinten alakult.

Az egyedi szomatikus sejtszám vizsgálati eredményeket a **4.5. táblázatban** mutatjuk be. A legkisebb sejtszámok 10 eladó esetében (48%) a 100.000 sejt/ml szintet sem érték el, viszont volt két olyan eladó, akiknél még a legkisebb sejtszám eredmények is meghaladták a 400.000 sejt/ml határértéket. A szélsőértékek maximális tartományának vizsgálatából megállapítható, hogy mindössze két olyan értékesítési pont (10%) szerepelt a vizsgálatban, ahol a mérési eredmények egyetlen esetben sem haladták meg a 400.000 sejt/ml határértéket, ugyanakkor 12 eladó (57%) volt érintett az 1.000.000 sejt/ml határértéket is meghaladó mérési eredmények vonatkozásában.

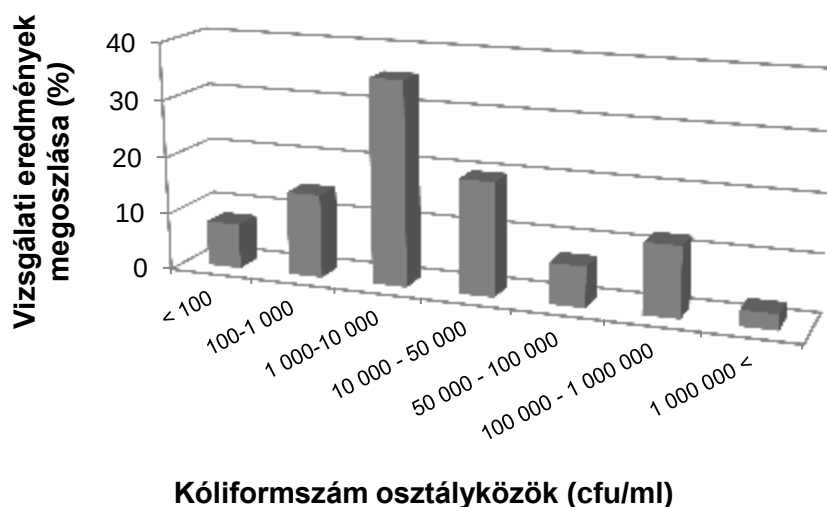
4.5. táblázat: Az egyes értékesítési pontokon vett minták szomatikus sejtszáma (sejt/ml)

Eladó azonosítója	Átlag* $\pm$ szórás	Szélsőérték	
		Minimum	Maximum
1.	603.375 $\pm$ 196.062	136.000	1.240.000
2.	299.360 $\pm$ 301.050	3.000	1.659.000
3.	321.208 $\pm$ 142.204	62.000	882.000
4.	679.320 $\pm$ 400.214	108.000	3.820.000
5.	363.696 $\pm$ 170.130	129.000	1.724.000
6.	1.244.292 $\pm$ 902.541	85.000	5.373.000
7.	323.625 $\pm$ 171.096	53.000	1.543.000
8.	232.333 $\pm$ 124.443	29.000	601.000
9.	288.944 $\pm$ 217.133	27.000	1.159.000
10.	512.240 $\pm$ 179.440	234.000	2.365.000
11.	209.318 $\pm$ 27.557	119.000	290.000
12.	212.400 $\pm$ 63.200	75.000	524.000
13.	228.333 $\pm$ 21.599	137.000	271.000
14.	736.160 $\pm$ 155.508	426.000	1.876.000
15.	552.680 $\pm$ 550.321	10.000	1.588.000
16.	501.720 $\pm$ 249.003	118.000	2.264.000
17.	954.375 $\pm$ 274.826	498.000	2.039.000
18.	271.286 $\pm$ 131.277	132.000	639.000
19.	317.625 $\pm$ 95.420	145.000	649.000
20.	363.087 $\pm$ 120.806	52.000	743.000
21.	202.500 $\pm$ 108.867	34.000	725.000

* Kiugró értékek kizárásával képzett átlagok

4.1.6. Kóliformszám

Az összcsíraszám mellett például a kóliformok vizsgálata révén tudhatunk meg többet a tejben található szennyező mikrobiota jellegéről, a helyes tejnyerés és tejkezelés műveleteinek betartásáról. A szakirodalomban általánosan elfogadott határérték a 100 cfu/ml, az ezt meghaladó kóliformszám a tejnyerés és a tejkezelés higiéniai hiányosságaira utal (Tasci, 2011). Tremonte és mtsai (2014) tejautomatákból nyert mintákban 100 cfu/ml körüli kezdeti kóliform terheltséget tapasztaltak. Egyedi mintáink vizsgálati eredményeinek megoszlását a **4.6. ábra** szemlélteti.



4.6. ábra: A kóliformszám-vizsgálati eredmények gyakorisági megoszlása (n = 506)

Az egyedi kóliform vizsgálati eredmények mindössze 8%-a nem haladta meg a 100 cfu/ml határértéket. A vizsgálati eredmények több mint egyharmada (36%) az 1.000-10.000 cfu/ml osztályközbe volt besorolható. A 10.000 cfu/ml-nél több kóliform baktériumot tartalmazó minták összesített aránya 42%-ot tett ki. Az érintett termelők kritikus higiénés viszonyait tükrözi az 1.000.000 cfu/ml-t meghaladó minták 3%-os aránya is.

Az egyes értékesítési pontok átlagértékeiről és a szélsőértékek alakulásáról a **4.6. táblázat** nyújt tájékoztatást. Megállapítható, hogy az értékesítési pontok szintjén a kóliformszám átlagértékek 929 és 574.257 cfu/ml között változtak. A szélsőértékek – az aerob mezofil mikrobaszámhoz hasonlóan – még egy adott mintavételi pont esetében is tág határok között ingadoztak (100-3.000.000 cfu/ml). A különbség egyazon eladónál akár a négy nagyságrendet is meghaladhatta, ami súlyos higiénés mulasztásokra, egyúttal bélsár eredetű szennyeződésre enged következtetni. A megvizsgált 506 db minta kóliformszám főátlagát 94.602 cfu/ml-nek találtuk.

4.6. táblázat: Az egyes értékesítési pontokon vett minták kóliformszáma (cfu/ml)

Eladó azonosítója	Átlag* $\pm$ szórás	Szélsőérték	
		Minimum	Maximum
1.	103.967 $\pm$ 232.339	100	2.700.000
2.	11.338 $\pm$ 18.477	100	340.000
3.	108.576 $\pm$ 143.417	200	640.000
4.	5.658 $\pm$ 6.751	100	143.000
5.	574.257 $\pm$ 848.363	100	3.000.000
6.	73.879 $\pm$ 138.238	100	540.000
7.	34.928 $\pm$ 43.457	200	320.000
8.	11.396 $\pm$ 14.951	300	150.000
9.	8.922 $\pm$ 11.782	100	300.000
10.	14.848 $\pm$ 19.300	200	280.000
11.	7.203 $\pm$ 18.738	100	320.000
12.	5.364 $\pm$ 16.295	100	900.000
13.	1.220 $\pm$ 1.273	100	3.400
14.	9.467 $\pm$ 9.150	600	200.000
15.	67.821 $\pm$ 116.862	300	1.300.000
16.	39.246 $\pm$ 53.046	900	274.000
17.	33.258 $\pm$ 44.937	800	510.000
18.	32.514 $\pm$ 30.747	2.900	140.000
19.	50.104 $\pm$ 87.189	400	1.500.000
20.	9.542 $\pm$ 17.143	100	202.000
21.	929 $\pm$ 1.340	100	2.200.000

* Kiugró értékek kizárásával képzett átlagok

4.1.7. Erjedésgátló tejidegen anyagok

Az erjedésgátló tejidegen anyagok jelenlétét az összes felvásárolt és minősítésre kerülő tejmintában vizsgálják. Az általunk figyelemmel kísért 13 hónapos időszak alatt a felvásárolt és minősített tejtételeket reprezentáló minták 0,04%-a mutatott gátlóanyag-pozitivitást. Minőségi értelemben ez ugyan egy nagyságrenddel jobb a közvetlenül értékesített tejminták 0,4%-os eredményénél, de utóbbi érték az 506 db megvizsgált mintából mindössze kettőnek a pozitivitását jelentette.

4.1.8. Összefüggések vizsgálata

4.1.8.1. Mintahőmérséklet és összcsíraszám

Számos szakirodalmi forrás tárgyalja és igazolja a tej hőmérséklete és összcsíraszám között fennálló szoros összefüggést (Muir és mtsai, 1978; Pantoja

és mtsai, 2009; Perko, 2011). A témában végzett, többnyire fázisvizsgálatokon alapuló kutatások a pszichotróf és a mezofil mikrobiota alakulását elemezték felvásárolt tejekben. Fázisvizsgálatok elvégzésére, azaz a megmintázott tételek követésére a közvetlenül értékesített tej vizsgálatánál nem volt lehetőségünk. A megmintázott tételek hőmérsékletét így egy alkalommal ellenőriztük, és a két paraméter jellemzően szoros összefüggésének helytállóságát a közvetlen értékesítés esetében is megvizsgáltuk. A mintavételt követően mért tejhőmérsékletek és az összcsíraszám eredmények csupán egyetlen esetben mutattak érzékelhető összefüggést ($r = 0,66$), a többi értékesítési ponton vagy nem volt kapcsolat, vagy az laza volt. A hőmérsékleti jellemzőket és az összcsíraszámokat bemutató **4.1. és 4.4. táblázat**ból látható, hogy az átlagok és a szélsőértékek valamennyi eladó esetében tág határok között mozogtak. Példaként említhetők azok az értékesítési pontok, ahol kis összcsíraszám értékek nagy hőmérséklettel társultak, de több, ezzel ellentétes esetet is feljegyeztünk.

A tej jellemzői közül a hőmérséklet változtatható meg a legkönnyebben. A hőmérsékletváltozás dinamikáját azonban behatárolja a tárolt tej mennyisége és ezen keresztül a hőkapacitása. Lényeges, hogy a mintahőmérséklet csak pillanatnyi állapotot mutat, ugyanakkor vásárlóként nem rendelkezünk megbízható információval a nyers tej "előéletéről", a hőmérséklet árusítást megelőző alakulásáról, az esetleges szennyeződésekről, továbbá a tej koráról sem.

A nyers elegytej hőmérséklete és összcsíraszám közötti összefüggés vizsgálatokor figyelemmel kell lenni a közvetlen értékesítést jellemző, a fejestől a fogyasztásig eltelő viszonylag rövid, általában 1 napot nem meghaladó tárolási időre is. Fontosnak tartjuk megjegyezni, hogy a hazai felvásárolt nyers tejek átlagos összcsíraszám 2013-ban 31.000 cfu/ml, 2014-ben pedig 35.000 cfu/ml körül alakult, ami azért lényeges, mert a közvetlenül értékesített tej egy része ebből a forrásból származik. Ugyanakkor, a hőmérsékleti átlagértékek a 19 eladási pont közül 13 esetben a 10°C-ot sem haladták meg. Az említett körülmények önmagukban nem indokolják az 1.000.000 cfu/ml-t szinte kivétel nélkül meghaladó összcsíraszám átlagértékeket. A két változó közötti kapcsolat a 8°C-ot nem meghaladó átlaghőmérsékletű tejet áruló eladónál két esetben negatív és értékelhetetlen szorosságú, három eladónál pozitív és értékelhetetlen, míg egy esetben érzékelhető mértékű volt. Ezek az eladási pontok ugyan elfogadható hőfokú hűtést biztosítottak az árusítás folyamán, de a tőlük vásárolt tej átlagos összcsíraszám minden esetben meghaladta a 600.000 cfu/ml-t, annak legnagyobb értéke 4.800.000 cfu/ml körül alakult.

Az egységesen laza összefüggést mutató korrelációs együtthatókból és az összcsíraszám átlagértékek alakulásából megállapítható, hogy a – vásárlást követően mért – mintahőmérséklet a közvetlen értékesítés során nem gyakorolt értékelhető hatást az elegytej összcsíraszámára. A nagy mikrobaszám elsősorban a tejnyeréskor és tejkezeléskor elkövetett higiénés mulasztások, hibák következménye volt.

4.1.8.2. Mintahőmérséklet és kóliformszám

Az összcsíraszám mellett további minőségi jellemzőket is megvizsgáltunk, összefüggést keresve az egyes értékesítési pontokra jellemző hőmérsékleti eredményekkel. A kóliformok vizsgálatánál az összcsíraszám–hőmérséklet összefüggéshez hasonló eredményeket kaptunk azzal a különbséggel, hogy itt két eladó esetében jegyeztünk fel szoros összefüggést. A hőmérséklet, mint vizsgálati

paraméter megbízhatatlanságát jelzi, hogy négy értékesítési ponton értékelhetetlen negatív összefüggést találtunk, 11 értékesítési ponton pedig nem volt kimutatható összefüggés a két változó között. A fennmaradó öt eladó esetében laza és érzékelhető szintű összefüggések adódtak. Az összefüggés hiányát mutató értékesítési pontok kóliform átlagértékei ugyanakkor 929 cfu/ml és 108.576 cfu/ml között alakultak, köztük a 10^4 cfu/ml nagyságrendű kóliformot tartalmazó minták voltak többségben.

Nem képezte elemzés tárgyát, de említést érdemel, hogy a minták közel 20%-a változó rendszerességgel tartalmazott valamilyen fizikai szennyeződést, ami a palack alján üledék formájában volt megfigyelhető. A szennyezés egy részét alomként és trágyaként azonosítottuk. Ez a jelenség a tej jelentős mértékű posztsekrációs szennyezésére utal, ami ezekben az esetekben megmagyarázza a kóliformszám és a tej hőmérséklete közötti összefüggés hiányát.

4.1.8.3. Mintahőmérséklet és savfok

A minták hőmérséklete és savfoka közötti összefüggések vizsgálata során hét eladónál negatív korrelációt jegyeztünk fel. Ezek erőssége négy esetben értékelhetetlen, két esetben laza, egy esetben érzékelhető volt. Értékelhetetlen kapcsolat állt fenn hat mintavételi ponton, és további hat eladónál igazoltunk laza összefüggést a vizsgált paraméterek tekintetében. A savfok-vizsgálati eredmények értékesítési pontok szerint rendszerezett átlagértékeit elemezve megállapítható, hogy mindössze egy mintavételi pont savfok-értéke volt kiugróan nagy ($7,99^\circ\text{SH}$), mert ez az eladó nem hűtötte a tejét.

A közvetlenül értékesített tej hőmérséklete és savfoka közötti kapcsolat rugalmatlan jellegét jól tükrözi a savfok-átlageredmények viszonylag szűk jellemző tartománya ($5,93\text{--}7,11^\circ\text{SH}$) és a hőmérsékleti átlagértékek ezzel szemben jóval változatosabb alakulása ($6,1\text{--}14,6^\circ\text{C}$). A két minőségi jellemző rugalmatlan viszonyára utal az a megfigyelés is, amely szerint a tej átlaghőmérséklete hat értékesítési ponton haladta meg a 10°C -ot, de ezek egyikéhez sem társultak savanyodásra utaló savfok-eredmények, a legnagyobb érték $7,11^\circ\text{SH}$ volt.

4.1.8.4. Összcsíraszám és kóliformszám

Az összcsíraszám és a kóliformszám közötti összefüggés vizsgálata során megállapítottuk, hogy az értékesítési pontok többségén érzékelhető kapcsolat állt fenn a két vizsgált minőségi jellemző között. Szoros összefüggést találtunk négy eladó tejének esetében, hét esetben pedig érzékelhető mértékű volt a kapcsolat. A szoros összefüggés az érintett eladónál nem feltétlenül jelentette a többi eredmény viszonylatában mért legnagyobb összcsíraszámot és kóliformszámot.

Pantoja és mtsai (2009) 7.241 db felvásárolt nyers tej minta egyes mikrobiológiai minőségi jellemzői között fennálló összefüggéseket vizsgálták. Az összcsíraszám átlagértéke 12.545 cfu/ml, míg a kóliformszámé 242 cfu/ml volt. Összehasonlításként megemlítjük, hogy az általunk megvizsgált 506 db minta összcsíraszám főátlaga 3.195.144 cfu/ml, kóliformszám főátlaga pedig 94.602 cfu/ml volt. Az főátlagok összevetése alapján, a közvetlenül értékesített nyers tej a felvásárolt tejeknél mintegy 250-szer több mezofil mikroorganizmust és 390-szer több kóliformot tartalmazott. Az eredményeket főátlag szinten értékelve, a kóliformok összcsíraszámra belüli 2,96%-os részesedését jegyeztük fel a közvetlenül értékesített tejek esetében, szemben a felvásárolt tejek 1,93%-os arányával. A

felvásárolt tejek 1,93%-os kóliform arányát a közvetlen értékesítési pontok szintjén hat eladó (29%) tejének vonatkozó átlaga haladta meg, miközben annak értéke az összes eladónál 0,06-5,28% között alakult. Megállapítható, hogy főátlagok szintjén a közvetlenül értékesített tejek összcsíraszám : kóliformszám aránya jól közelítette a felvásárolt tejek esetében mért értékeket, de az arányok alapját képező mikrobaszámok között jelentős eltérés állt fenn. Az arányok változatos képet mutattak az egyes közvetlen értékesítési pontokon, ahol esetenként akár két nagyságrenddel is eltértek egymástól.

4.1.8.5. Összcsíraszám és savfok

A mintavételi pontok többségén értékelhető kapcsolat ($r \geq 0,25$) állt fenn a minták aerob mezofil mikroorganizmus-száma és savfoka között. Szoros kapcsolatot mutattunk ki három mintavételi ponton, érzékelhető kapcsolat állt fenn öt pont esetében, további öt mintavételi pontnál laza összefüggést tapasztaltunk, ismét öt ponton pedig nem volt kapcsolat a vizsgált paraméterek között.

Ezek az eredmények csak részben egyeznek meg Revelli és mtsai (2004) megállapításaival, akik 55 tejtermelő gazdaság elegytejének mikrobiológiai jellemzőit vizsgálták meg 1993 és 2002 között. A 6.998 db nyers elegytej minta vizsgálata alapján laza kapcsolatot ($r = 0,29$) mutattak ki a minták összcsíraszám és savfoka között. Az általunk vizsgált minták összcsíraszám és savfok eredményei közötti kapcsolat eltérő szorossága inkább csak matematikai–statisztikai aspektusból bír jelentőséggel, mert 21 eladóból 18-nak (86%) a tejsavfok-átlagértéke a friss tejre jellemző tartományban helyezkedett el. Ez gyakorlati szempontból a közvetlenül értékesített nyers elegytej összcsíraszámának és savfokának rugalmatlan jellegére, a köztük fennálló összefüggés lazaságára utal, amelynek hátterében szintén a tej nagymértékű posztsekreációs szennyezése állhatott.

4.2. Kecsketej mikrobiológiai–higiéniai minőségének alakulása a laktáció során, a fejéstől a hűtve tárolásig

A mikrobiológiai–higiéniai vizsgálatok eredményeit a **4.7.-4.11. táblázatok** szemléltetik.

4.2.1. Szomatikus sejtszám

A kecsketej szomatikus sejtszáma összességében ingadozott, csak az egyedi állatoktól vett minták esetében mutatkozott növekvő tendencia a laktáció előrehaladtával. Mindazonáltal az összes mintavételi ponton a nyári hónapok során jegyeztük fel a minimális szomatikus sejtszám-átlagértéket (**4.7. táblázat**). A hűtve tárolt tejekben jellemzően $1,0 \times 10^6$ sejt/ml feletti havi átlagértékeket mértünk, vagyis a tehéntejtől megkövetelt $\leq 4,0 \times 10^5$ sejt/ml ($\leq 5,60 \log_{10}$ sejt/ml) szintet jelentősen meghaladó eredményeket kaptunk.

4.7. táblázat: *Kecsketej szomatikus sejtszámának ($\log_{10}$ sejt/ml) alakulása a fejéstől a hűtve tárolásig, egy dunántúli tejtermelő gazdaságban, 2005 májusa és novembere között**

Hónap	I.	II.	III.	IV.
mintavételi hely				
Május	$5,41 \pm 0,74^{A,a}$	$5,98 \pm 0,37^{AB,a}$	$6,05 \pm 0,44^{ABC,a}$	—
Június	$5,37 \pm 0,58^{A,c}$	$5,79 \pm 0,18^{B,bc}$	$5,93 \pm 0,27^{BC,b}$	$6,23 \pm 0,09^{A,a}$
Július	$5,64 \pm 0,68^{A,a}$	$5,91 \pm 0,39^{AB,a}$	$5,84 \pm 0,41^{ABC,a}$	$5,87 \pm 0,52^{ABC,a}$
Augusztus	$5,52 \pm 0,70^{A,b}$	$5,74 \pm 0,18^{B,b}$	$5,89 \pm 0,19^{C,b}$	$6,08 \pm 0,13^{BC,a}$
Szeptember	$5,83 \pm 0,62^{A,ab}$	$5,90 \pm 0,27^{AB,b}$	$6,14 \pm 0,24^{AB,ab}$	$6,24 \pm 0,26^{AB,a}$
Október	$5,66 \pm 0,34^{A,b}$	$6,08 \pm 0,12^{A,b}$	$6,15 \pm 0,07^{A,b}$	$6,11 \pm 0,08^{BC,a}$
November	$5,88 \pm 0,52^{A,a}$	$6,00 \pm 0,15^{A,a}$	$6,08 \pm 0,11^{AB,a}$	$6,03 \pm 0,08^{C,a}$

* Az adatok 8 mérés (4 párhuzamos $\times$ 2 ismétlés) átlag $\pm$ szórás-értékét jelölik

I.: egyedi állatok, II.: tejlévásztó csap a tejevezetékben, III.: hűtőtárolóba beömlő vezeték, IV.: hűtőtároló tank

^{A-C} Az azonos oszlopban szereplő eltérő nagybetűk szignifikáns különbséget jeleznek ($P < 0,05$)

^{a-c} Az azonos sorban szereplő eltérő kisbetűk szignifikáns különbséget jeleznek ($P < 0,05$)

Míg nyers tehéntej esetében a szomatikus sejtszám a higiéniai minőség legfontosabb indikátora, kecsketejnél ez nincs így, mert a laktáció előrehaladtával és az ellések számának növekedésével természetes módon nő a nyers kecsketej egységnyi térfogatában található szomatikus sejtek száma, amely akkor is meghaladhatja a bizonyos országokban küszöbértéknek tekintett $1,0 \times 10^6$ sejt/ml szintet, ha az állat egyébként nem küzd tőgyegészségügyi problémákkal (White és Hinckley, 1999; Foschino és mtsai, 2002; Delgado-Pertíñez és mtsai, 2003; Paape és mtsai, 2007; Silanikove és mtsai, 2014). Paape és mtsai (2007) megállapították, hogy a kecskék első laktációjának 15. napján mért, jellemzően $2,0 \times 10^5$ sejt/ml körüli szomatikus sejtszám az ötödik laktáció 285. napjára átlagosan $1,2 \times 10^6$ sejt/ml értékre nő.

Az EU-ban nincs kötelezően előírt maximális határérték a tehéntejtől különböző nyers tejek szomatikus sejtszámára vonatkozóan (European Parliament és Council of the European Union, 2004b). Leitner és mtsai (2008) viszont javaslatot fogalmaztak meg a nyers kecsketej szomatikus sejtszám (SCC) alapján történő minősítésére, az alábbiak szerint:

- **A osztály:** $SCC < 8,4 \times 10^5$ sejt/ml; a szubklinikailag tőgygyulladásos egyedek aránya nem több, mint az állomány 25%-a, az ebből adódó tejmenyeség-veszteség pedig legfeljebb 0,8%;
- **B osztály:** $8,4 \times 10^5$ sejt/ml $\leq SCC < 1,2 \times 10^6$ sejt/ml; a tőgygyulladás az állomány felét is érintheti, a tejmenyeség-veszteség pedig elérheti az 1,5%-ot;
- **C osztály:** $1,6 \times 10^6$ sejt/ml $< SCC < 3,5 \times 10^6$ sejt/ml; az állománynak akár háromnegyede is a szubklinikailag tőgygyulladásos lehet, miközben a tejmenyeség-veszteség 2,3%-ra emelkedhet;
- $SCC \geq 3,5 \times 10^6$ sejt/ml; a kecsketej fogyasztása egészségügyi kockázattal jár kórokozó baktériumok és toxinjaik potenciális jelenléte miatt.

Az utóbbi több mint két évtizedben a világ különböző pontjain számos kutató vizsgálta a nyers kecsketej szomatikus sejtszámának alakulását. Észak- és dél-amerikai tanulmányok egyaránt arról tanúskodnak, hogy az Újvilágban termelt nyers kecsketej szomatikus sejtszáma jellemzően $9,3 \times 10^5$ sejt/ml és $2,9 \times 10^6$ sejt/ml között alakul, miközben a megvizsgált minták nagyobbik hányadát (51-87%) $1,0 \times 10^6$ sejt/ml feletti szomatikus sejtszám jellemzi (Droke és mtsai, 1993; Zeng és Escobar, 1995, 1996; Fekadu és mtsai, 2005; Oliveira és mtsai, 2011).

Hasonló kép rajzolódik ki a dél-európai munkákból is. Az olasz ($9,9 \times 10^5$ sejt/ml) és a francia ($1,0$ - $1,2 \times 10^6$ sejt/ml) nyers kecsketejek szomatikus sejtszám-

átlag a kisebb, mint a görögöké ($1,6-3,2 \times 10^6$ sejt/ml), míg a spanyol kecsketejek e tekintetben köztes minőséget ($2,1 \times 10^6$ sejt/ml) képviselnek (Foschino és mtsai, 2002; Delgado-Pertiñez és mtsai, 2003; Morgan és mtsai, 2003).

Kedvező helyzetről tudósítanak egyes közép-európai szerzők is. Bogdanovičová és mtsai (2016) csehországi nyers kecsketej-mintákban $1,1 \times 10^6$ sejt/ml szomatikus sejtszám-átlagot mértek, Csanádi és mtsai (2015, 2016) pedig $6,6 \times 10^5$ sejt/ml értékben határozták meg alföldi gazdaságokból származó nyers kecsketej-mintáik átlagos szomatikus sejtszámát. Közlésük szerint az általunk is vizsgált parlagi (magyar) fajta teje milliliterenként átlagosan $6,9 \times 10^5$ db ($5,84 \log_{10}$ sejt/ml) szomatikus sejtet tartalmaz. Ez jó egyezést mutat a mi eredményeinkkel, mert bár a hűtőtároló tankból vett nyers kecsketej-mintáink teljes laktációra számított átlaga ($6,09 \log_{10}$ sejt/ml) meghaladta a Csanádi és mtsai (2015, 2016) által meghatározott szintet, egyedi állataink tejmintáinak vonatkozó átlagértéke ($5,61 \log_{10}$ sejt/ml) kisebbnek mutatkozott annál (**4.13. táblázat**).

4.2.2. Aerob mezofil mikroorganizmus-szám

Az aerob mezofil mikroorganizmus-szám alakulásából arra lehet következtetni, hogy a fejéshigiénia, a tisztítás és a fertőtlenítés, valamint a tej hűtve tárolása terén még van tennivaló a vizsgált gazdaságban (**4.8. táblázat**). A frissen kifejt tej nagyon jó minőségű volt, hiszen minden hónapban 100.000 cfu/ml alatti összcsíraszám-átlag jellemezte, sőt a teljes laktációra vonatkozó átlagérték 10.000 cfu/ml alatt maradt (**4.13. táblázat**), viszont ahogy haladt előre a rendszerben a hűtve tárolás felé, a mikrobaszáma jelentősen emelkedett. A hűtőtároló tankba való beömlési pontnál mért néhány százezer cfu/ml-es szint önmagában még nem lenne kifogásolható, de ez a hűtve tárolás során tovább nőtt, és a laktációs időszak 7 hónapja alatt ezen a mintavételi ponton megvizsgált összes minta 71%-ában meghaladta a hatályos előírások értelmében még tolerálható 1.500.000 cfu/ml-es ($6,18 \log_{10}$ cfu/ml) értéket (European Parliament és Council of the European Union, 2004b). A hűtőtároló tankban a tej hőmérséklete $5,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$ volt, a tej elszállítása viszont csak háromnaponta történt. Ez utóbbi körülmény kétségtelenül szerepet játszott az összcsíraszám emelkedésében, mert 48 órás hűtve tárolást követően megnő ($P < 0,05$) a nyers kecsketej aerob mezofil és pszichotróf mikrobaszáma (Yamazi és mtsai, 2013).

4.8. táblázat: *Kecsketej aerob mezofil mikroorganizmus-számának ($\log_{10}$ cfu/ml) alakulása a fejéstől a hűtve tárolásig, egy dunántúli tejtermelő gazdaságban, 2005 májusa és novembere között**

Hónap	I.	II.	III.	IV.
	mintavételi hely			
Május	$4,90 \pm 0,91^{AB,a}$	$5,71 \pm 0,65^{AB,a}$	$5,29 \pm 0,87^{A,a}$	—
Június	$4,56 \pm 0,26^{A,c}$	$6,02 \pm 0,61^{AB,b}$	$5,57 \pm 0,99^{A,b}$	$6,79 \pm 0,54^{A,a}$
Július	$4,47 \pm 0,17^{AB,c}$	$5,69 \pm 0,21^{AB,b}$	$5,27 \pm 0,59^{A,b}$	$6,40 \pm 0,77^{AB,a}$
Augusztus	$4,27 \pm 0,24^{B,b}$	$5,84 \pm 0,32^{AB,a}$	$5,48 \pm 0,65^{A,a}$	$5,93 \pm 0,68^{B,a}$
Szeptember	$3,34 \pm 0,41^{C,d}$	$5,73 \pm 0,17^{AB,b}$	$5,18 \pm 0,16^{A,c}$	$6,61 \pm 0,53^{A,a}$
Október	$3,20 \pm 0,44^{CD,c}$	$5,82 \pm 0,19^{A,a}$	$5,33 \pm 0,21^{A,b}$	$6,02 \pm 0,40^{B,a}$
November	$2,97 \pm 0,26^{D,c}$	$5,66 \pm 0,17^{B,b}$	$5,42 \pm 0,35^{A,b}$	$6,70 \pm 0,37^{A,a}$

* Az adatok 8 mérés (4 párhuzamos $\times$ 2 ismétlés) átlag $\pm$ szórás-értékét jelölik

I.: egyedi állatok, II.: tejleválasztó csap a tejevezetékben, III.: hűtőtárolóba beömlő vezeték, IV.: hűtőtároló tank

^{A-D} Az azonos oszlopban szereplő eltérő nagybetűk szignifikáns különbséget jeleznek ($P < 0,05$)

^{a-d} Az azonos sorban szereplő eltérő kisbetűk szignifikáns különbséget jeleznek ($P < 0,05$)

A nyers kecsketej mikrobaszámára vonatkozó szakirodalmi közlések még azonos országban készült tanulmányok esetén is jelentős eltéréseket mutathatnak. Míg Yamazi és mtsai (2013) az általuk megvizsgált brazil kecsketej-minták több mint 90%-ában $1,0 \times 10^6$ cfu/ml-nél kevesebb aerob mezofil mikroorganizmust találtak, addig Oliveira és mtsai (2011) mintáinak felében $1,0 \times 10^6$ cfu/ml-nél több aerob mezofil mikroba volt. Zeng és Escobar (1995) kiváló bakteriológia minőségű amerikai nyers kecsketejéről tudósított, melyekben a márciustól októberig terjedő időszakban $9,5 \times 10^3$ cfu/ml volt az aerob mezofil mikroorganizmus-szám átlaga, és a laktáció előrehaladtával nőtt a mikrobaszám ($P < 0,001$). Ez utóbbi megfigyelés pont ellentétes azzal a trenddel, amit az egyedi állatoktól nyert tejmintáinknál tapasztaltunk (**4.8. táblázat**).

Európában is hasonlóan vegyes a kép mikrobaszám tekintetében. Ami például a mediterrán országokat illeti, Olaszországban, Franciaországban és Spanyolországban $5,0 \times 10^4$ cfu/ml és $1,0 \times 10^5$ cfu/ml közötti összcsíraszám-átlagok jellemzik a nyers kecsketejet (Foschino és mtsai, 2002; Morgan és mtsai, 2003; Álvarez-Suárez és mtsai, 2015); Görögországban és – az ugyan nem mediterrán, de szintén dél-európai – Portugáliában viszont ennél minimum egy, de akár két és fél nagyságrenddel is nagyobbak a vonatkozó átlagértékek (Morgan és mtsai, 2003; Kondyli és mtsai, 2012). Némileg meglepő módon, a fejlett tejgazdaságú Svájcban meglehetősen magas, átlagosan $8,3 \times 10^6$ cfu/ml a nyers kecsketej mikrobaszáma (Muehlherr és mtsai, 2003; Zweifel és mtsai, 2005). A hivatkozott svájci szerzők azt is megállapították, hogy a napi rendszerességgel végzett tejgyűjtéshez képest a két-, ill. háromnaponkénti tejelszállítás megnöveli ($P < 0,05$) a nyers kecsketej aerob mezofil mikroorganizmus-számát.

4.2.3. Kóliform- és *Escherichia coli*-szám

A kóliform baktériumok, mint nem megfelelő higiéniai állapotot jelző mikroorganizmusok vizsgálata során kapott eredmények (**4.9. táblázat**) alátámasztották az összcsírásszámmal kapcsolatos megfigyeléseinket. A frissen kifejt tej többnyire nem volt kóliform-mentes. A viszonylag alacsony kiindulási érték ($< 1,0 \times 10^2$ cfu/ml) a hűtve tárolás során átlagban 2,5 nagyságrenddel megemelkedett. Raynal-Ljutovac és mtsai (2005) kecsketej 72 órás tárolását követően ennél valamivel kisebb mértékű, 1-2 nagyságrendnyi kóliformszám növekedésről számoltak be.

4.9. táblázat: Kecsketej kóliform-számának ($\log_{10}$ cfu/ml) alakulása a fejestől a hűtve tárolásig, egy dunántúli tejtermelő gazdaságban, 2005 májusa és novembere között*

Hónap	I.	II.	III.	IV.
mintavételi hely				
Május	$0,00 \pm 0,00^{C,b}$	$2,13 \pm 0,98^{B,a}$	$2,42 \pm 0,30^{BC,a}$	—
Június	$1,40 \pm 1,04^{AB,b}$	$2,65 \pm 0,35^{AB,a}$	$2,39 \pm 0,29^{BC,a}$	$2,74 \pm 0,63^{C,a}$
Július	$1,60 \pm 0,62^{AB,c}$	$3,23 \pm 0,73^{A,b}$	$3,13 \pm 0,65^{A,b}$	$4,08 \pm 0,71^{AB,a}$
Augusztus	$1,90 \pm 0,87^{A,a}$	$2,21 \pm 0,59^{B,a}$	$2,02 \pm 0,57^{C,a}$	$3,01 \pm 1,35^{BC,a}$
Szeptember	$1,47 \pm 0,38^{AB,c}$	$3,09 \pm 1,14^{AB,b}$	$2,73 \pm 0,70^{AB,b}$	$4,14 \pm 0,58^{A,a}$
Október	$1,69 \pm 0,54^{A,b}$	$2,73 \pm 1,69^{AB,b}$	$2,01 \pm 0,71^{BC,b}$	$4,42 \pm 0,14^{A,a}$
November	$0,88 \pm 0,94^{B,c}$	$1,92 \pm 1,73^{AB,bc}$	$2,50 \pm 0,67^{ABC,b}$	$4,10 \pm 0,52^{AB,a}$

* Az adatok 8 mérés (4 párhuzamos $\times$ 2 ismétlés) átlag $\pm$ szórás-értékét jelölik

I.: egyedi állatok, II.: tejléválasztó csap a tejevezetékben, III.: hűtőtárolóba beömlő vezeték, IV.: hűtőtároló tank

^{A-C} Az azonos oszlopban szereplő eltérő nagybetűk szignifikáns különbséget jeleznek ($P < 0,05$)

^{a-c} Az azonos sorban szereplő eltérő kisbetűk szignifikáns különbséget jeleznek ($P < 0,05$)

Oliveira és mtsai (2011) tanulmányából az általunk tapasztaltnál jóval kedvezőtlenebb kép rajzolódik ki, ugyanis a megvizsgált brazil nyers kecsketejek 45%-a $1,0 \times 10^5$ cfu/ml-nél is több kóliformot tartalmazott, és az elegytej-mintákban $1,2 \times 10^6$ cfu/ml volt a kóliform baktériumok átlagos mennyisége. Nem jobb a helyzet Portugáliában és Görögországban sem, ahol a nyers kecsketejek milliliterenként szintén milliós számban tartalmaznak kóliformokat (Morgan és mtsai, 2003). Ez az állapot azért aggasztó, mert a kóliformszám a tejtermelés higiéniai színvonalának és a tejhűtés hatékonyságának az indikátora (Foschino és mtsai, 2002). Olasz, ill. francia nyers kecsketejekben viszont jellemzően 10^2 - 10^3 cfu/ml mennyiségben fordulnak elő kóliformok, az aerob mezofil mikrobaszámmal és az *E. coli*-számmal szoros pozitív összefüggésben (Foschino és mtsai, 2002; Morgan és mtsai, 2003).

A fekális szennyezettséget jelző *E. coli* előfordulását illetően nem tehetők az előzőekhez hasonló megállapítások, ugyanis a hűtve tárolt tej *E. coli*-száma jellemzően nem különbözött ($P > 0,05$) a frissen fejt tej *E. coli*-számától (**4.10. és 4.13. táblázat**). Ez látszólag ellentmond Foschino és mtsai (2002) ama megfigyelésének, miszerint 48 órás hűtve tárolást követően nő ($P < 0,05$) a nyers kecsketej-minták *E. coli*-száma.

4.10. táblázat: Kecsketej *Escherichia coli*-számának ($\log_{10}$ cfu/ml) alakulása a fejestől a hűtve tárolásig, egy dunántúli tejtermelő gazdaságban, 2005 májusa és novembere között*

Hónap	I.	II.	III.	IV.
mintavételi hely				
Május	$0,00 \pm 0,00^{C,a}$	$0,16 \pm 0,34^{C,a}$	$0,19 \pm 0,36^{BC,a}$	—
Június	$0,57 \pm 1,16^{ABC,a}$	$0,62 \pm 0,84^{BC,a}$	$0,35 \pm 0,60^{BC,a}$	$0,08 \pm 0,21^{C,a}$
Július	$0,76 \pm 0,65^{AB,c}$	$2,26 \pm 0,37^{A,a}$	$1,89 \pm 0,65^{A,ab}$	$1,83 \pm 0,24^{A,b}$
Augusztus	$0,58 \pm 0,67^{B,a}$	$1,19 \pm 1,03^{B,a}$	$1,30 \pm 0,86^{A,a}$	$0,64 \pm 0,69^{B,a}$
Szeptember	$1,16 \pm 0,25^{A,c}$	$2,30 \pm 0,32^{A,a}$	$1,72 \pm 0,96^{A,abc}$	$1,89 \pm 0,18^{A,b}$
Október	$0,84 \pm 0,49^{AB,a}$	$0,26 \pm 0,38^{C,b}$	$0,33 \pm 0,60^{B,ab}$	$0,63 \pm 0,49^{B,ab}$
November	$0,69 \pm 0,78^{AB,a}$	$0,28 \pm 0,78^{BC,ab}$	$0,00 \pm 0,00^{C,b}$	$0,55 \pm 0,79^{BC,ab}$

* Az adatok 8 mérés (4 párhuzamos $\times$ 2 ismétlés) átlag $\pm$ szórás-értékét jelölik

I.: egyedi állatok, II.: tejleválasztó csap a tejvezetékben, III.: hűtőtárolóba beömlő vezeték, IV.: hűtőtároló tank

A–C Az azonos oszlopban szereplő eltérő nagybetűk szignifikáns különbséget jeleznek ($P < 0,05$)

a–c Az azonos sorban szereplő eltérő kisbetűk szignifikáns különbséget jeleznek ($P < 0,05$)

Foschino és mtsai (2002) olaszországi nyers kecsketejekben kisszámú, átlagban 10 cfu/ml alatti *E. coli*-jelenlétet tapasztaltak. Eredményeik szerint az *E. coli*-szám a nyári hónapokban nagyobb, mint az év többi szakában. Yamazi és mtsai (2013) nyers kecsketej mintáinak 92%-a szintén 10 cfu/ml-nél kevesebb *E. coli*-t tartalmazott. Bogdanovičová és mtsai (2016) viszont $1,0 \times 10^1$ cfu/ml, valamint $1,6 \times 10^6$ cfu/ml közötti *E. coli*-jelenlétről számoltak be cseh nyers kecsketejek vizsgálata alapján, továbbá közölték, hogy mintáik 6,3%-a verotoxikus *E. coli*-t is tartalmazott.

4.2.4. Koaguláz-pozitív *Staphylococcus*-szám

A koaguláz-pozitív sztafilokokkuszok előfordulását illetően is azt tapasztaltuk, hogy a viszonylag alacsony kezdeti élősejt-szám a tejnek a fejő és tejkezelő rendszerben történő előrehaladása során emelkedett ($P < 0,05$); ez esetben azonban a hűtve tárolás alatt nem következett be a vizsgált mikrobacsoport további szaporodása, vagyis a tejvezeték higiéniai állapotával adódhattak gondok (**4.11. táblázat**). Végeredményben, a feldolgozónak átadandó tej koaguláz-pozitív *Staphylococcus*-száma előbb csak megközelítette, majd egy alkalommal (szeptemberben) meg is haladta azt a szintet ($3,30 \log_{10}$ cfu/ml), amely alatt a tej

alkalmas lett volna hőkezelés nélküli fogyasztásra vagy termékgyártásra (FVM-ESZCSM, 2003).

4.11. táblázat: *Kecsketej koaguláz-pozitív Staphylococcus-számának ($\log_{10}$ cfu/ml) alakulása a fejéstől a hűtve tárolásig, egy dunántúli tejtermelő gazdaságban, 2005 májusa és novembere között**

Hónap	I.	II.	III.	IV.
	mintavételi hely			
Május	$1,19 \pm 1,87^{ABCD,a}$	$2,25 \pm 0,37^{DE,a}$	$2,15 \pm 0,37^{D,a}$	—
Június	$1,21 \pm 0,68^{CD,b}$	$2,50 \pm 0,36^{CD,a}$	$2,42 \pm 0,26^{D,a}$	$2,52 \pm 0,10^{C,a}$
Július	$1,62 \pm 0,25^{C,d}$	$3,29 \pm 0,30^{A,a}$	$2,81 \pm 0,21^{C,b}$	$2,44 \pm 0,29^{C,c}$
Augusztus	$2,03 \pm 0,46^{B,c}$	$2,90 \pm 0,06^{B,b}$	$3,09 \pm 0,19^{B,a}$	$2,89 \pm 0,12^{B,b}$
Szeptember	$2,53 \pm 0,33^{A,c}$	$3,40 \pm 0,09^{A,b}$	$3,63 \pm 0,18^{A,a}$	$3,42 \pm 0,31^{A,ab}$
Október	$1,66 \pm 0,87^{BCD,c}$	$2,86 \pm 0,32^{BC,b}$	$2,86 \pm 0,27^{BC,b}$	$3,20 \pm 0,16^{A,a}$
November	$0,78 \pm 0,84^{D,b}$	$1,87 \pm 0,53^{E,a}$	$1,96 \pm 0,74^{D,a}$	$2,10 \pm 0,98^{C,a}$

* Az adatok 8 mérés (4 párhuzamos $\times$ 2 ismétlés) átlag $\pm$ szórás-értékét jelölik

I.: egyedi állatok, II.: tejeválasztó csap a tejevezetékben, III.: hűtőtárolóba beömlő vezeték, IV.: hűtőtároló tank

^{A-E} Az azonos oszlopban szereplő eltérő nagybetűk szignifikáns különbséget jeleznek ($P < 0,05$)

^{a-d} Az azonos sorban szereplő eltérő kisbetűk szignifikáns különbséget jeleznek ($P < 0,05$)

A legutóbbi években számos tudományos publikáció látott napvilágot a *Staph. aureus*, ill. a koaguláz-pozitív sztafilokokkuszok nyers kecsketejből történő kimutatásának témakörében. Az európai szerzők 34% és 86% közötti előfordulási gyakoriságot, valamint $1,0 \times 10^0$ cfu/ml és $4,0 \times 10^4$ cfu/ml közötti elősejt-szám átlagokat közölnek (Álvarez-Suárez és mtsai, 2015; Cortimiglia és mtsai, 2015; Rola és mtsai, 2015b; Bogdanovičová és mtsai, 2016), Cavicchioli és mtsai (2015) viszont kivétel nélkül találtak koaguláz-pozitív sztafilokokkuszokat brazil nyers kecsketej-mintákban, az esetek többségében $1,0 \times 10^2$ cfu/ml alatti mennyiségben. Ezek az adatok higiéniai mulasztásokra, a fejés és a tej tárolása során elkövetett hibákra, továbbá az állatállományok tőgyegészségügyi problémáira utalnak (Le Loir és mtsai, 2003; Cavicchioli és mtsai, 2015).

4.2.5. Gátlóanyag-tartalom

A humán-egészségügyi és technológiai szempontból is ártalmas tejidegen gátlóanyag-jelenlét (Zeng és mtsai, 1996; Beltrán és mtsai, 2015) kimutatására irányuló vizsgálataink minden esetben negatív eredményt hoztak, tehát a laktáció során megvizsgált összes (216 db) mintánk kifogástalannak bizonyult e fontos tejminőségi paraméterre nézve. Daróczi (2009) viszont kedvezőtlenebb állapotot talált, amikor 18 magyar termelőtől származó 151 db nyers kecsketej-minta közül kettőben (1,3%) gátlóanyagok nyomaira bukkant. Berruga és mtsai (2016) szerint spanyol nyers kecsketejek esetében 0,001-0,1%-ra tehető az antibiotikum-maradványokat tartalmazó minták aránya.

4.2.6. pH-érték

A kecsketej kémhatásának laktáció alatti alakulása a **4.12. táblázatban** követhető nyomon. A havi pH-átlagok jellemzően 6,55-6,60 körüliek voltak és évszaktól függő változást nem mutattak. Csupán néhány esetben észleltünk különbséget ($P < 0,05$) az egyes mintavételi pontokon meghatározott havi átlagértékek között.

4.12. táblázat: Kecsketej pH-értékének alakulása a fejestől a hűtve tárolásig, egy dunántúli tejtermelő gazdaságban, 2005 májusa és novembere között*

Hónap	I.	II.	III.	IV.
	mintavételi hely			
Május	6,59 ± 0,06 ^{AB,a}	6,60 ± 0,02 ^{A,a}	6,62 ± 0,02 ^{A,a}	—
Június	6,53 ± 0,08 ^{AB,ab}	6,51 ± 0,05 ^{C,b}	6,56 ± 0,03 ^{C,a}	6,52 ± 0,03 ^{C,b}
Július	6,56 ± 0,04 ^{AB,a}	6,58 ± 0,04 ^{AB,a}	6,59 ± 0,05 ^{ABC,a}	6,55 ± 0,14 ^{ABC,a}
Augusztus	6,55 ± 0,05 ^{AB,b}	6,59 ± 0,02 ^{A,b}	6,63 ± 0,02 ^{A,a}	6,64 ± 0,02 ^{A,a}
Szeptember	6,55 ± 0,08 ^{AB,a}	6,55 ± 0,11 ^{ABC,a}	6,57 ± 0,08 ^{ABC,a}	6,41 ± 0,20 ^{C,a}
Október	6,53 ± 0,06 ^{B,a}	6,52 ± 0,09 ^{BC,a}	6,57 ± 0,02 ^{C,a}	6,57 ± 0,05 ^{C,a}
November	6,57 ± 0,03 ^{A,c}	6,59 ± 0,01 ^{A,bc}	6,60 ± 0,01 ^{B,b}	6,62 ± 0,01 ^{B,a}

* Az adatok 8 mérés (4 párhuzamos × 2 ismételtes) átlag ± szórás-értékét jelölik

I.: egyedi állatok, II.: tejeleválasztó csap a tejvezetékben, III.: hűtőtárolóba beömlő vezeték, IV.: hűtőtároló tank

^{A-C} Az azonos oszlopban szereplő eltérő nagybetűk szignifikáns különbséget jeleznek ($P < 0,05$)

^{a-c} Az azonos sorban szereplő eltérő kisbetűk szignifikáns különbséget jeleznek ($P < 0,05$)

A nemzetközi szakirodalomban a kecsketej pH-értékére vonatkozóan fellelhető egyedi mérési adatok tág határok (6,39-6,82) között mozognak (Foschino és mtsai, 2002; Amigo és Fontecha, 2011; Mayer és Fiechter, 2012a,b). A havi vagy éves állományátlagok ellenben jóval kisebb szórást mutatnak, általában 6,55-6,70 körüliek (Tirard-Collet és mtsai, 1991; Kukovics és mtsai, 2004, 2009; Kondyli és mtsai, 2012). Morgan és mtsai (2003) arról számoltak be, hogy görög, portugál és francia nyers kecsketej-minták pH-értéke – szoros összefüggésben a mikrobiológiai minőséggel – átlagban rendre 6,50, 6,60 és 6,70 körüli volt. Pajor és mtsai (2009) magyar parlagi kecskék tejének kémhatását vizsgálva megállapították, hogy a laktációs szám nem befolyásolja a pH-t, a laktáció szakasza viszont igen ($P < 0,001$). A teljes laktációra számított átlag- és szórásértékük ($6,60 \pm 0,18$) jó egyezést mutatott a **4.13. táblázat**ban látható eredményeinkkel.

4.2.7. A vizsgálati eredmények összesítése

Ha a májustól novemberig terjedő héthónapos időszak egészére vonatkozóan összesített eredményeinket (**4.13. táblázat**) összevetjük azokkal az adatokkal, amelyek az általunk is vizsgált mikrobiológiai–higiéniai paraméterek többségét nyomon követő tanulmányokban szerepelnek, akkor pozitív kép tárul elénk. Ugyan fellelhetők olyan, elsősorban régebbi, észak-amerikai közlemények (Tirard-Collet és mtsai, 1991; Zeng és Escobar, 1995, 1996), amelyek a miénknél kedvezőbb helyzetről tanúskodnak, viszont az utóbbi másfél évtizedben publikált munkák többsége (Foschino és mtsai, 2002; Morgan és mtsai, 2003; Yamazi és mtsai, 2013; Bogdanovičová és mtsai, 2016) a mi tapasztalatainkat támasztja alá.

4.13. táblázat: Kecsketej higiéniai–mikrobiológiai minőségének és kémhatásának alakulása a fejestől a hűtve tárolásig, egy dunántúli tejtermelő-üzemben, 2005-ben*

Minőségi jellemző	I.	II.	III.	IV. **
	mintavételi hely			
Szomatikus sejtszám (log ₁₀ sejt/ml)	5,61 ± 0,60 ^c	5,91 ± 0,27 ^b	6,01 ± 0,29 ^{ab}	6,09 ± 0,27 ^a
Aerob mezofil mikrobaszám (log ₁₀ cfu/ml)	3,96 ± 0,83 ^d	5,78 ± 0,38 ^b	5,36 ± 0,60 ^c	6,41 ± 0,63 ^a
Kóliform-szám (log ₁₀ cfu/ml)	1,28 ± 0,90 ^c	2,56 ± 1,17 ^b	2,46 ± 0,66 ^b	3,75 ± 0,95 ^a
<i>Escherichia coli</i> -szám (log ₁₀ cfu/ml)	0,66 ± 0,71 ^b	1,01 ± 1,06 ^a	0,82 ± 0,96 ^{ab}	0,94 ± 0,83 ^{ab}
Koaguláz(+) <i>Staphylococcus</i> -szám (log ₁₀ cfu/ml)	1,57 ± 1,02 ^b	2,72 ± 0,60 ^a	2,70 ± 0,64 ^a	2,76 ± 0,62 ^a
Gátlóanyagot tartalmazó minták részaránya (%)	0,00	0,00	0,00	0,00
pH-érték	6,55 ± 0,06 ^b	6,56 ± 0,06 ^b	6,59 ± 0,04 ^a	6,55 ± 0,12 ^b

* Az adatok 56 mérés (7 hónap × 4 párhuzamos × 2 ismétlés) átlag ± szórás-értékét jelölik

** n = 48 (6 hónap × 4 párhuzamos × 2 ismétlés)

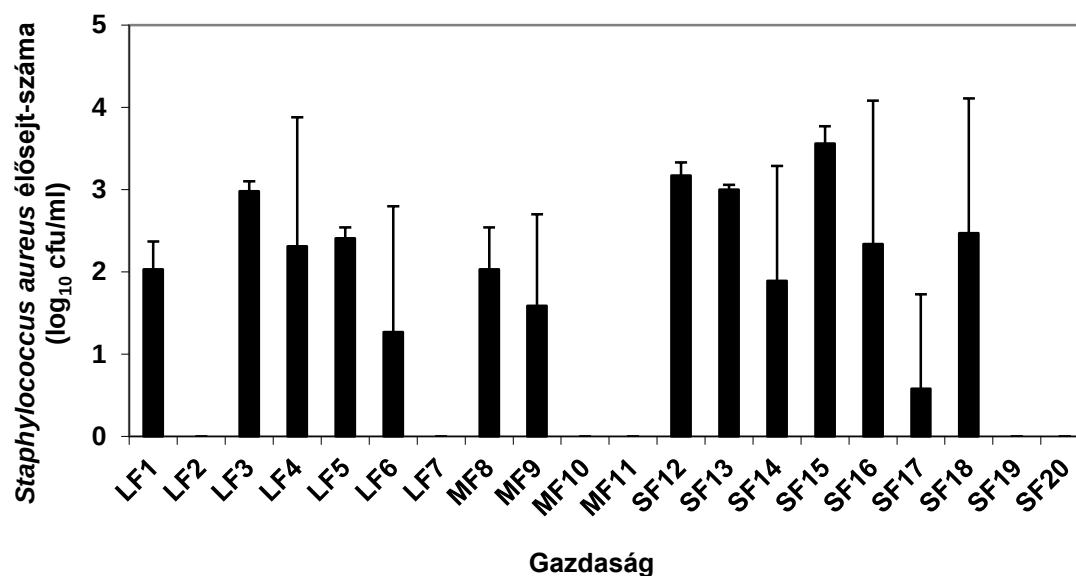
I.: egyedi állatok, II.: tejléválasztó csap a tejvezetékben, III.: hűtőtárolóba beömlő vezeték, IV.: hűtőtároló tank

^{a-d} Az azonos sorban szereplő eltérő kisbetűk szignifikáns különbséget jeleznek ($P < 0,05$)

4.3. Nyers tehéntejéből izolált *Staphylococcus aureus* törzsek jellemzése

4.3.1. *Staphylococcus aureus* izolálása és élősejt-számainak meghatározása

A 4.7. ábra szemléletesen mutatja, hogy húsz gazdaság közül tizennégynek az elegytejéből kimutatható volt a *Staph. aureus*, átlagosan legfeljebb $6,0 \times 10^3$ cfu/ml mennyiségben. Ez az eredmény összhangban van Stephan és mtsai (2002) közlésével, miszerint a svájci elegytejek $1,0 \times 10^1$ és $3,0 \times 10^3$ cfu/ml közötti számban tartalmaznak *Staph. aureus*-t. Egy kiskisgazdaságban (SF15) nagymértékű ($> 3,30 \log_{10}$ cfu/ml, ill. $> 2,0 \times 10^3$ cfu/ml), három gazdaságban (LF3, SF12, SF13) közepes szintű ($2,70$ - $3,30 \log_{10}$ cfu/ml, ill. $5,0 \times 10^2$ és $2,0 \times 10^3$ cfu/ml közötti), az összes többi vizsgált gazdaságban pedig csekély mértékű ($< 2,70 \log_{10}$ cfu/ml, ill. $< 5,0 \times 10^2$ cfu/ml) volt az elegytej átlagos *Staph. aureus*-szennyezettsége. Utóbbiak közül két-két nagy- (LF2, LF7), közepes méretű- (MF10, MF11) és kiskisgazdaság (SF19, SF20) elegyteje nem tartalmazott kimutatható mennyiségű ($< 1,0 \times 10^0$ cfu/ml) *Staph. aureus*-t (4.7. ábra).



4.7. ábra: Különböző üzemméretű tejtermelő gazdaságokból gyűjtött nyers elegytej minták *Staphylococcus aureus* élősejt-száma ($\log_{10}$ cfu/ml átlag $\pm$ szórás, $n = 4$)
[LF: nagygazdaság, MF: közepes méretű gazdaság, SF: kisgazdaság]

Nem tapasztaltunk eltérést ($P > 0,05$) a különböző üzemméretű gazdaságok nyers elegytejének összesített, átlagos *Staph. aureus* élősejt-számai között (**4.14. táblázat**), amelyek – öröndetes módon – mindhárom esetben a vonatkozó tejhygiéniai rendeletekben (Council of the European Communities, 1992; FVM-ESZCSM, 2003) szereplő m-érték ($5,0 \times 10^2$ cfu/ml, ill. $2,7 \log_{10}$ cfu/ml) alattiak voltak.

4.14. táblázat: Különböző üzemméretű gazdaságok nyers elegytejének *Staphylococcus aureus* élősejt-száma

Gazdaság mérete	<i>Staphylococcus aureus</i> élősejt-szám ($\log_{10}$ cfu/ml)*
Nagy ($n = 28$)	$1,57 \pm 1,34^a$
Közepes ($n = 16$)	$0,90 \pm 1,09^a$
Kicsi ($n = 36$)	$1,74 \pm 1,62^a$

* Az adatok átlag $\pm$ szórás értéket jelölnek

^a Az azonos betűjelzésű átlagok nem különböznek szignifikánsan egymástól ($P > 0,05$)

Izolátumaink fenotipizálását követően összesen 59 db törzset választottunk ki genotípusos jellemzésre. Ezek közül ötven törzs elegytejeből, kilenc törzs pedig tőgygyulladásos tőgynegyed-tej mintákból származott (**4.15. táblázat**). A tamponos letörléssel vett felületi (környezeti) mintákból nem sikerült sztafilokokkuszokat kitenyészteni.

4.15. táblázat: A vizsgálatok során izolált Staphylococcus aureus törzsek jellemzői

Gazdaság ¹	PFGE mintázat	Törzs			Fenotípusos tulajdonságok						Enterotoxin gén
		száma	azonosítója	eredete ²	Tellurit redukció	Lecitínáz aktivitás	Hemolízis	Kötött koaguláz	Szabad koaguláz	Antibiogram ³	
LF1	A	2	9, 11	BTM	Szürke	Erős	α - β	Pozitív	Pozitív	S	Nincs
	B	2	10, 12	BTM	Fekete	Gyenge	α - β	Pozitív	Pozitív	S	<i>sed</i>
LF3	C	4	17, 18, 19, 20	BTM	Fekete	Erős	Gyenge	Pozitív	Pozitív	S	<i>sea</i>
LF4	D	5	34, 35, 37, 38, 43	BTM, UQM	Fekete	Nincs	α	Pozitív	Pozitív	R (Pen)	Nincs
	D1	2	41, 47	UQM	Fekete	Nincs	α	Pozitív	Pozitív	R (Pen)	Nincs
	E	1	48	UQM	Szürke	Nincs	α - β	Pozitív	Pozitív	S	Nincs
LF5	D	1	30	UQM	Fekete	Gyenge	α	Pozitív	Pozitív	R (Pen)	Nincs
	F	3	21, 26, 28	BTM, UQM	Fekete	Erős	Gyenge	Pozitív	Pozitív	R (Pen)	Nincs (2), <i>seg/sei</i> (1)
	F1	2	22, 23	BTM	Szürke	Erős	Gyenge	Pozitív	Pozitív	R (Pen)	<i>seb</i>
LF6	G	3	31, 32, 33	BTM	Szürke	Erős	β	Pozitív	Pozitív	S	Nincs
MF8	H	3	6, 7, 8	BTM	Szürke	Erős	α - β	Pozitív	Pozitív	S	Nincs
MF9	C1	3	13, 14, 15	BTM	Fekete	Erős	α - β (2), gyenge (1)	Pozitív	Pozitív	S	<i>sec</i>
SF12	I	1	16	BTM	Szürke	Erős	Gyenge	Pozitív	Pozitív	R (Pen)	<i>sec</i>
	A2	1	65	BTM	Fekete	Erős	α - β	Pozitív	Pozitív	R (Pen)	Nincs
SF13	J	2	63, 64	BTM	Fekete	Nincs	α - β	Pozitív	Pozitív	S	Nincs
	G1	3	66, 67, 68	BTM	Fekete	Erős	α - β	Pozitív	Pozitív	S	Nincs
SF14	K	3	69, 70, 71	BTM	Szürke	Erős	α - β	Pozitív	Pozitív	R (Pen)	<i>seb</i>
SF15	L	3	49, 50, 73	BTM	Szürke	Erős	α - β	Pozitív	Pozitív	S	Nincs
	M	1	74	BTM	Fekete	Nincs	α - β	Pozitív	Pozitív	S	Nincs
SF16	A1	4	52, 53, 75, 76	BTM	Szürke	Gyenge	Gyenge	Pozitív	Pozitív	S	Nincs
SF17	J1	3	55, 57, 78	BTM	Fekete	Nincs	α - β	Pozitív	Pozitív	S	Nincs
	N	1	79	BTM	Szürke	Erős	α - β	Pozitív	Pozitív	S	Nincs
SF18	L1	2	60, 83	BTM	Szürke	Erős	Gyenge	Pozitív	Pozitív	S	Nincs
	N	4	58, 59, 81, 82	BTM	Szürke	Erős	α - β	Pozitív	Pozitív	S	Nincs

¹ LF: nagygazdaság, MF: közepes méretű gazdaság, SF: kisgazdaság

² BTM: elegytej, UQM: tőgynegyed-tej

³ S: Érzékeny az alábbi antibiotikumokra: penicillin, methicillin, cefoxitin, lincomycin, tetracycline, erythromycin, and sulfamethoxazole / trimethoprim; R (Pen): Rezisztens a penicillinre és érzékeny az összes többi megvizsgált antibiotikumra

4.3.2. *Staphylococcus aureus* törzsek antibiotikum-érzékenységének vizsgálata

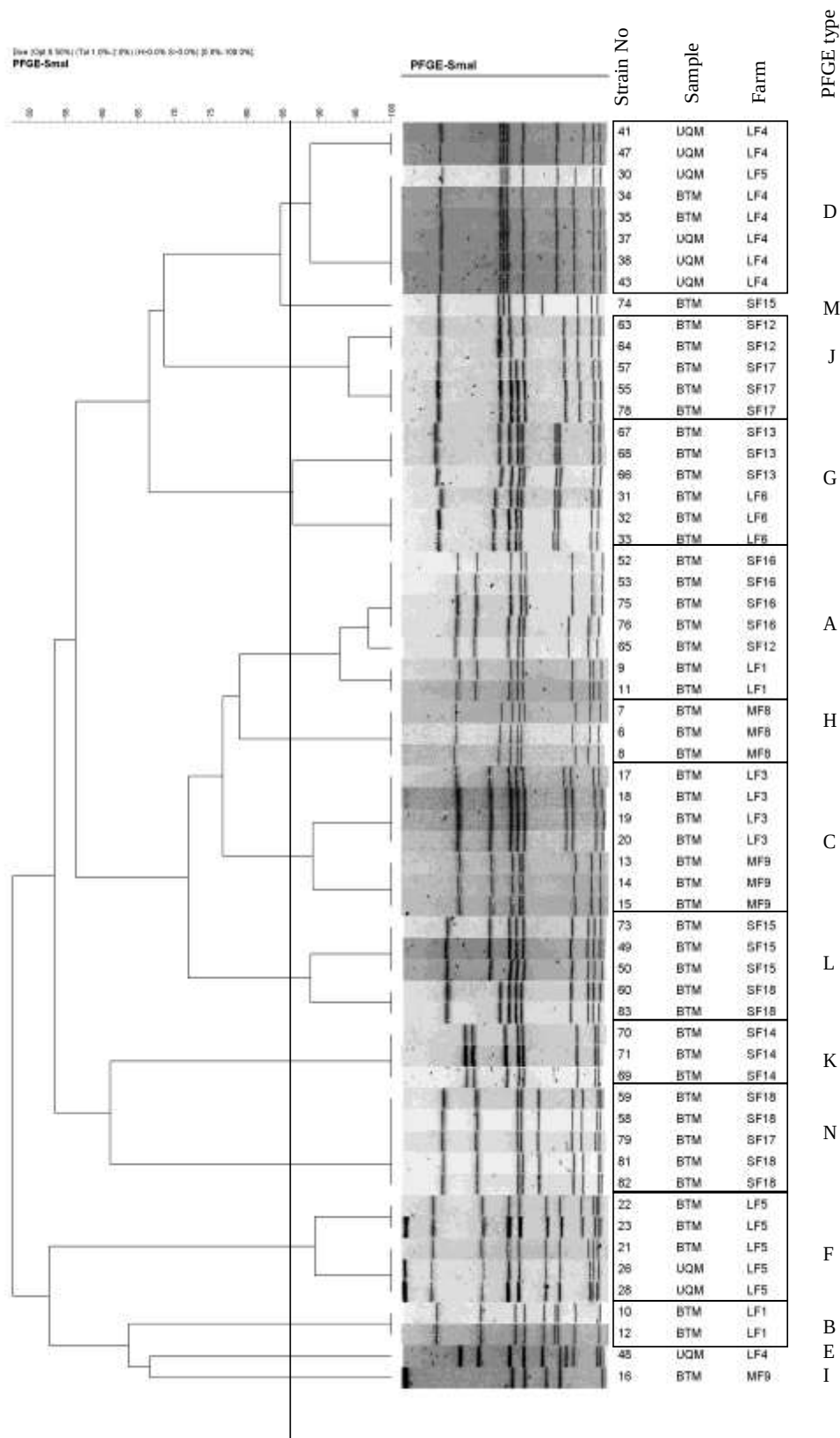
Az 59 db *Staph. aureus* törzs kivétel nélkül érzékenynek bizonyult az alábbi antibiotikumok mindegyikére: methicillin, cefoxitin, lincomycin, tetracycline, erythromycin és sulfamethoxazole / trimethoprim. Negyvenegy izolátum a penicillinre is érzékeny volt, 18 db (30,5%) viszont penicillin-rezisztensnek mutatkozott (**4.15. táblázat**). A tögygyulladásos tögynegyed-tej mintákból származó *Staph. aureus* törzsek 88,9%-át, míg az elegytej-eredetűeknek “csak” 20,0%-át találtuk penicillin-rezisztensnek.

A *Staph. aureus* nemcsak penicillin-rezisztenciát képes kifejleszteni, hanem megjelentek és világszerte egyre nagyobb problémát okoznak ún. methicillin-, ill. multirezisztens (MRSA) törzsei is, jóllehet ezek elterjedtsége régióként nagyon változó (Waage és mtsai, 2002; Normanno és mtsai, 2007; Rola és mtsai, 2015b; Herrera és mtsai, 2016; Parisi és mtsai, 2016; Teshome és mtsai, 2016). A minta eredetétől függően, a penicillin-rezisztens *Staph. aureus* törzsek előfordulási gyakorisága 10%-tól (Jørgensen és mtsai, 2005a,b) akár több mint 50%-ig (Pitkälä és mtsai, 2004; Wang és mtsai, 2014; Rola és mtsai, 2016) terjedhet. A penicillin-rezisztens baktériumok nyers tej és abból készült termékek útján történő terjedése komoly gondot jelent a világ számos részén (Jørgensen és mtsai, 2005b; Normanno és mtsai, 2007; Rola és mtsai, 2015a).

4.3.3. A *Staphylococcus* enterotoxinokat kódoló gének amplifikációja

A multiplex PCR módszerrel megvizsgált 59 db *Staph. aureus* törzs közül 16 db (27,1%) hordozott SE-gént (**4.15. táblázat**). Tizenöt törzsből csak egy-egy SE-gént, egy törzsből viszont két gént is (*seg* és *sei*) sikerült kimutatnunk. A 27,1%-os előfordulási gyakoriság szinte pontosan megegyezik a Rola és mtsai (2015a) által publikált eredménnyel (29%), viszont lényegesen kisebb a szakirodalomban e paraméterre vonatkozóan közölt, jellemzően 45-80%-os értékeknél (Stephan és mtsai, 2002; Scherrer és mtsai, 2004; Jørgensen és mtsai, 2005a; Katsuda és mtsai, 2005; Boerema és mtsai, 2006; Hata és mtsai, 2006; Pexara és mtsai, 2016; Rola és mtsai, 2016).

A *sea* és a *sec* gén egyaránt négy törzsben fordult elő (rendre az LF3, ill. az MF9 jelű gazdaságokban), míg a *seb* gént öt (LF5 és SF14 gazdaságokban), a *sed* gént két (LF1 gazdaságban), a *seg/sei* géneket pedig egy izolátumunk (LF5 gazdaságban) hordozta. Az a tény, hogy izolátumainkban a *seb* gén fordult elő legnagyobb gyakorisággal, egybecseng Boerema és mtsai (2006) megállapításával, akik 90 db *Staph. aureus* törzs genetikai tulajdonságait, ill. enterotoxicitását vizsgálva jutottak erre a felismerésre. Klasszikus SE géneket (*sea–sed*) kizárólag elegytejeből izolált törzsekben találtunk, míg az újabb típusú géneket (*seg* és *sei*) hordozó egyetlen izolátumunk (#26) masztitiszes tögynegyed-tejből származott (**4.8. ábra** és **4.15. táblázat**). A *seg* és a *sei* előfordulását vizsgáló tanulmányok többsége megállapítja, hogy ezek a gének *Staph. aureus*-ban mindig együtt található meg – a *sem*, a *sen*, a *seo* és a *selu* társaságában –, mert közös genetikai elem, ún. enterotoxin génklaszteren (*egc*) helyezkednek el (Jarraud és mtsai, 2001; Rosec and Gigaud, 2002; Stephan és mtsai, 2002; Scherrer és mtsai, 2004; Katsuda és mtsai, 2005; Bania és mtsai, 2006; Boerema és mtsai, 2006; Hata és mtsai, 2006; Kérouanton és mtsai, 2007; Johler és mtsai, 2015; Cheng és mtsai, 2016; Tarekne és mtsai, 2016).



4.8. ábra: A vizsgálatok során izolált *Staphylococcus aureus* törzsek PFGE mintázatai alapján készült, a törzsek rokonsági viszonyait szemléltető dendrogram (a klaszterek kialakítása 86%-os hasonlósági szint felett történt)

[Az ábra jobb szélén látható oszlopok a törzsek azonosító számát, a minták eredetét (BTM: elegytej, UQM: tőgynegyed-tej), a gazdaságok kódját (LF: nagygazdaság, MF: közepes méretű gazdaság, SF: kisgazdaság) és a PFGE főtípusokat mutatják]

Említést érdemel továbbá, hogy izolátumaink egyike sem hordozta a *see*, a *seh*, a *sej* vagy a *tst* gént, és a megvizsgált gazdaságok háromnegyedének – húsz gazdaság közül tizenötnek – a nyers elegytejében, ill. tőgygyulladásos tőgynegyed-tej mintáiban sem fordult elő enterotoxikus *Staph. aureus* törzs (**4.15. táblázat**).

4.3.4. *Staphylococcus aureus* törzsek genetikai kapcsolatainak felderítése

Pulzáló gélelektroforézissel, 86%-os hasonlósági szinten, huszonkét pulzotípust sikerült elkülönítenünk, amelyek tizennégy főtypusba és nyolc altípusba voltak sorolhatók (**4.8. ábra** és **4.15. táblázat**). Az elegytej-eredetű törzsek tizenhárom főtypusba (A–D és F–N) és hét altípusba (A1, A2, C1, F1, G1, J1, L1), a masztitiszes tőgynegyed-tej mintákból származó izolátumok pedig három főtypusba (D, E, F) és egy altípusba (D1) tartoztak. Szembetűnő volt izolátumaink gazdaságon belüli genetikai diverzitásának hiánya, hiszen egyik helyen sem találtunk kettőnél több főtypust; ugyanakkor mindössze két olyan pulzotípus akadt (D és N), amely egynél több gazdaságban is előfordult. A PFGE mintázatok az elegytejből és a tőgygyulladásos tőgynegyed-tej mintákból származó *Staph. aureus* izolátumok genetikai rokonságáról tanúskodtak mindkét olyan gazdaság (LF4 és LF5) esetében, amelyekből sikerült tőgynegyed-tej eredetű törzseket is izolálni. Ennek legvalószínűbb magyarázata az, hogy azokon a telepeken, ahol jelentős számban fordulnak elő szubklinikai vagy akár klinikai tőgygyulladásban szenvedő tehenek, mint pl. az LF4 és LF5 jelű gazdaságban, a *Staph. aureus* átjuthat a fertőzött tőgyből az elegytejbe, sőt a nyers tejből készült tejtermékekbe is (Stephan és mtsai, 2002; Asperger and Zangerl, 2003; Jørgensen és mtsai, 2005a). A **4.15. táblázatban** az is látható, hogy a *sea*, *seb*, *sec*, *sed* és *seg/sei* géneket rendre a C, K/F1, I/C1, B és F pulzotípusok hordozták; a penicillin-rezisztens izolátumok pedig hét pulzotípusba (D, F, I és K főtypus, ill. A2, D1 és F1 altípus) tartoztak.

4.4. *Escherichia coli* O157:H7 tejből történő kimutatására szolgáló módszerek összehasonlító értékelése és *E. coli* O157:H7 előfordulása nyers tehéntejben

4.4.1. *Escherichia coli* O157:H7 kimutatása a célmikrobával és egy nem kórokozó *E. coli* törzsszel különböző mennyiségben beoltott modell tejtápközegből

Ahogy a **4.16. táblázat** mutatja, UHT tej mintáinkat kórokozó *E. coli* O157:H7-VT(N) NCTC 121900 törzsszel (5-15 cfu/ml) és egyidejűleg apatogén *E. coli* ATCC 25922 törzsszel is beoltottuk. Utóbbi mikrobákat kis (5-15 cfu/ml), közepes (50-150 cfu/ml), vagy nagy (500-1500 cfu/ml) koncentrációban alkalmaztuk. A hagyományos eljárások közül a PHLS 2. módszer bizonyult legalkalmasabbnak az *E. coli* O157:H7 modell tejtápközegből történő kimutatására. Ennél a módszernél szelektív dúsító tápközegként novobiocint tartalmazó módosított tripton szója levest (mTSB+N) használunk, szelektív táptalajként pedig cefiximmal és kálium-tellurittal kiegészített MacConkey szorbit (CT-SMAC) agarlemezeket. Megállapításunk összhangban van Reinders és mtsai (2002) közlésével, miszerint az mTSB+N táplevesben történő közvetlen dúsítás nagyobb kimutatási érzékenységet eredményez mind a puffertelt peptonvízben (BPW), mind pedig a BPW-ben, majd mTSB+N levesben végzett kétlépéses dúsításhoz képest.

A Mini-VIDAS ECO rendszer szintén kiváló eredményeket produkált. Ehelyütt részletesen nem közölt vizsgálati adatainkból kiderült, hogy az *E. coli* O157:H7

automatizált immunológiai módszerrel történő kimutatásának sikeressége kizárólag a célmikroba dúsítás utáni élősejt-számától függött. Ha ez elérte, vagy meghaladta a $2,5 \times 10^4$ cfu/ml szintet, a háttérflóra nagysága nem befolyásolta a kórokozó kimutatásának eredményességét.

4.16. táblázat: *Escherichia coli* O157:H7 kimutatásának hatékonysága a célmikrobával [*E. coli* O157:H7-VT(N) NCTC 121900] és háttérflórával (apatogén *E. coli* ATCC 25922) különböző mértékben, mesterségesen beszennyezett UHT tejekből

Módszer	Szelektív dúsító tápleves	<i>E. coli</i> O157:H7	Apatogén <i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	Apatogén <i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> O157:H7 jelenléte (+), ill. hiánya (-)		
		szennyezettségi szintje		élősejt-száma ¹	Chromocult Coliform	szelektív agarlemezen		Mini-VIDAS
		cfu/ml		Agaron ² , dúsítást követően		O157:H7 ID ³	CT-SMAC ⁴	ECO módszerrel vizsgálva
ISO 11866-1:1997	LS ⁵ és EC ⁶	0		$1,2 \times 10^8$	0	+	+	+
		5-15		$< 10^6$	$7,0 \times 10^8$	-	+	+
		50-150		$< 10^6$	$7,0 \times 10^8$	-	+	+
		500-1500		$< 10^6$	$7,6 \times 10^8$	-	-	+
PHLS 1	BPW + VCC ⁷	0		$4,3 \times 10^8$	0	+	+	+
		5-15		$6,3 \times 10^4$	$9,1 \times 10^4$	+	+	+
		50-150		$1,7 \times 10^5$	$4,0 \times 10^5$	+	+	+
		500-1500		$1,2 \times 10^5$	$5,8 \times 10^6$	-	+	+
US FDA BAM C	mTSB + VCC ⁸	0	5-15	$8,8 \times 10^8$	0	+	+	+
		5-15		$5,2 \times 10^6$	$2,0 \times 10^4$	+	+	+
		50-150		$2,5 \times 10^6$	$6,0 \times 10^5$	+	+	+
		500-1500		$8,6 \times 10^5$	$3,3 \times 10^6$	-	+	+
PHLS 2	mTSB + N ⁹	0		$1,1 \times 10^9$	0	+	+	+
		5-15		$6,0 \times 10^8$	$3,0 \times 10^7$	+	+	+
		50-150		$6,1 \times 10^8$	$3,0 \times 10^7$	+	+	+
		500-1500		$1,2 \times 10^8$	$9,2 \times 10^7$	+	+	+

¹ Az adatok 6 mérés (3 párhuzamos × 2 ismétlés) átlagértékét jelölik

² Merck (Darmstadt, Németország)

³ bioMérieux (Marcy l'Etoile, Franciaország)

⁴ MacConkey szorbit agar (Merck) + cefixim (0,05 mg/l; Dynal, Lake Success, NY, USA) + kálium-tellurit (2,5 mg/l; Dynal)

⁵ Lauril-szulfát tápleves (Merck)

⁶ *Escherichia coli* tápleves (Merck)

⁷ Pufferelt peptonvíz (Oxoid, Basingstoke, Egyesült Királyság) + vankomicin (8,0 mg/l; Oxoid) + cefsulodin (10,0 mg/l; Oxoid) + cefixim (0,05 mg/l; Oxoid)

⁸ Módosított tripton szója tápleves (Oxoid) + vankomicin (8,0 mg/l; Oxoid) + cefsulodin (10,0 mg/l; Oxoid) + cefixim (0,0125 mg/l; Oxoid)

⁹ Módosított tripton szója tápleves (Oxoid) + novobiocin (20,0 mg/l; Sigma, St. Louis, MO, USA)

4.4.2. *Escherichia coli* O157:H7 kimutatása a célmikrobával beoltott, különböző nagyságú természetes háttérflórát (kóliformokat és *E. coli*) tartalmazó nyers tejből

Alapanyagul kis (1-100 cfu/ml), közepes (100-1000 cfu/ml) és nagy mennyiségű (> 1000 cfu/ml) természetes háttérflórát (kóliformokat és *E. coli*) tartalmazó nyers tej tételeket használtunk, amelyeket vagy nem oltottunk be (0 cfu/ml), vagy beoltottunk (5-15 cfu/ml) *E. coli* O157:H7 tenyésztel. A Mini-VIDAS ECO rendszer és az US FDA BAM C módszer bizonyult legalkalmasabbnak az *E. coli* O157:H7 nyers tej mintákból történő kimutatására (**4.17. táblázat**). Utóbbi eljárásnál szelektív dúsító tápközegként vankomicin, cefixim és cefsulodin antibiotikumokat tartalmazó módosított tripton szója levest (mTSB+VCC) használunk, szelektív táptalajként pedig CT-SMAC agarlemezeket.

4.17. táblázat: *Escherichia coli* O157:H7 kimutatásának hatékonysága a célmikrobával [*E. coli* O157:H7-VT(N) NCTC 121900] mesterségesen beszenyezett, különböző nagyságú természetes háttérflórát (kóliformok, ill. *E. coli*) tartalmazó nyers tejekből

Módszer	Szelektív dúsító tápleves	Természetes <i>E. coli</i> O157:H7 háttérflóra (kóliformok és <i>E. coli</i>)		<i>E. coli</i> O157:H7 jelenléte (+), ill. hiánya (–)				
		szennyezettségi szintje (cfu/ml)		O157:H7 ID szelektív agarlemezen ¹	Latex agglutinációval	CT-SMAC szelektív agarlemezen ²	Latex agglutinációval	Mini-VIDAS ECO módszerrel vizsgálva
ISO 11866-1:1997	LS ³ és EC ⁴	5-15	0	+	+	+	+	+
		0	1-100	–		–		–
		5-15	1-100	–		–		+
		0	1-100	–		–		+
		5-15	100-1000	–		–		–
		5-15	100-1000	–		–		–
		0	100-1000	–		–		–
		5-15	> 1000	–		–		–
		5-15	> 1000	–		–		–
		5-15	> 1000	–		–		–
PHLS 1	BPW + VCC ⁵	5-15	0	+	+	+	+	+
		0	1-100	–		–		–
		5-15	1-100	+	–	+	+	+
		0	1-100	–		+	–	–
		5-15	100-1000	–		+	–	+
		5-15	100-1000	+	–	+	–	+
		0	100-1000	–		+	–	–
		5-15	> 1000	+	–	+	–	+
		5-15	> 1000	+	–	–		+
		5-15	> 1000	+	–	–		+

¹ bioMérieux (Marcy l'Etoile, Franciaország)

² MacConkey szorbit agar (Merck, Darmstadt, Németország) + cefixim (0,05 mg/l; Dynal, Lake Success, NY, USA) + kálium-tellurit (2,5 mg/l; Dynal)

³ Lauril-szulfát tápleves (Merck)

⁴ *Escherichia coli* tápleves (Merck)

⁵ Pufferelt peptonvíz (Oxoid, Basingstoke, Egyesült Királyság) + vankomicin (8,0 mg/l; Oxoid) + cefsulodin (10,0 mg/l; Oxoid) + cefixim (0,05 mg/l; Oxoid)

4.17. táblázat (folytatás): *Escherichia coli* O157:H7 kimutatásának hatékonysága a célmikrobával [*E. coli* O157:H7-VT(N) NCTC 121900] mesterségesen beszennyezett, különböző nagyságú természetes háttérflórát (kóliformok, ill. *E. coli*) tartalmazó nyers tejekből

Módszer	Szelektív dúsító tápleves	<i>E. coli</i> O157:H7 szennyezettségi szintje (cfu/ml)	Természetes háttérflóra (kóliformok és <i>E. coli</i>)	<i>E. coli</i> O157:H7 jelenléte (+), ill. hiánya (–)				
				O157:H7 ID szelektív agarlemezen ¹	Latex agglutinációval	CT-SMAC szelektív agarlemezen ²	Latex agglutinációval	Mini-VIDAS ECO módszerrel vizsgálva
US FDA BAM C	mTSB + VCC ³	5-15	0	+	+	+	+	+
		0	1-100	–	–	–	–	–
		5-15	1-100	+	+	+	+	+
		0	1-100	–	–	–	–	–
		5-15	100-1000	+	–	+	+	+
		5-15	100-1000	+	–	+	+	+
		0	100-1000	–	–	+	–	–
		5-15	> 1000	+	–	+	–	+
		5-15	> 1000	+	–	+	–	+
		5-15	> 1000	–	–	–	–	+
		5-15	0	+	+	+	+	+
		0	1-100	–	–	–	–	–
		5-15	1-100	+	–	+	+	+
		0	1-100	+	–	+	–	–
PHLS 2	mTSB + N ⁴	5-15	100-1000	+	–	+	–	+
		5-15	100-1000	+	–	+	–	+
		0	100-1000	+	–	+	–	–
		5-15	> 1000	+	–	+	–	+
		5-15	> 1000	+	–	–	–	+
		5-15	> 1000	+	–	–	–	+
		5-15	> 1000	+	–	–	–	+
		5-15	> 1000	+	–	–	–	+
		5-15	> 1000	+	–	–	–	+
		5-15	> 1000	+	–	–	–	+

¹ bioMérieux (Marcy l'Etoile, Franciaország)

² MacConkey szorbit agar (Merck, Darmstadt, Németország) + cefixim (0,05 mg/l; Dynal, Lake Success, NY, USA) + kálium-tellurit (2,5 mg/l; Dynal)

³ Módosított tripton szója tápleves (Oxoid, Basingstoke, Egyesült Királyság) + vankomicin (8,0 mg/l; Oxoid) + cefsulodin (10,0 mg/l; Oxoid) + cefixim (0,0125 mg/l; Oxoid)

⁴ Módosított tripton szója tápleves (Oxoid) + novobiocin (20,0 mg/l; Sigma, St. Louis, MO, USA)

4.4.3. A módszerek összehasonlítása időszükségletük és bonyolultságuk alapján

A vizsgált eljárások közül az ISO szabványmódszere volt a leginkább időigényes, mert ez állt a legtöbb lépésből. A minták *E. coli* O157:H7 mentességét ennek alkalmazásával a 3. napon, míg pozitivitásukat a 4. napon tudtuk megállapítani. Az US FDA BAM C módszere és a PHLS módszerei mindkét (negatív és pozitív) esetben egyaránt 1 nappal rövidebb idő alatt vezettek eredményre, mint az ISO 11866-1:1997 eljárás. Időtakarékosság és az alkalmazás egyszerűsége szempontjából is az automatizált immunológiai módszer szerepelt a legjobban, a Mini-VIDAS ECO rendszerrel ugyanis mindössze 1 nap alatt detektálni lehetett a – normál viszonyok között többségben levő – negatív mintákat, és a pozitívítás minden kétséget kizáró megerősítése sem tartott tovább 3 napnál.

4.4.4. A módszerek összehasonlítása érzékenység, specifikusság és pontosság alapján

A hagyományos élősejt-szám meghatározási eljárások közül az US FDA BAM C módszer szerepelt legjobban mindhárom vizsgált paraméter vonatkozásában. A Mini-VIDAS ECO rendszer azonban még ezt is felülmúlta, ugyanis az érzékenységét, specifikusságát és pontosságát rendre 100%-nak, 97,9%-nak és 99,3%-nak találtuk (**4.18. táblázat**). Az automatizált immunfluoreszcens eljárás kiváló teljesítményének oka az, hogy ennél a háttérflóra nagysága nem befolyásolja a kimutatás eredményességét, mert ha az *E. coli* O157:H7 a szelektív dúsító tápközegben felszaporodik a szükséges szintre ($\geq 2,5 \times 10^4$ cfu/ml), akkor hamis negatív eredmény nem fordulhat elő. A vizsgálataink során egy esetben (0,67%) tapasztalt hamis pozitív eredmény gyakorlati szempontból tolerálható, mert bár az azonosítása felesleges többletmunkát igényel, az ilyen nyers tej tétel nem jelent egészségügyi kockázatot.

4.18. táblázat: *Escherichia coli* O157:H7 kimutatására szolgáló módszerek érzékenységének, specifikusságának és pontosságának összehasonlítása

Paraméter	PHLS 1	US FDA BAM C	PHLS 2	Mini-VIDAS ECO
Összes mintaszám	150	150	150	150
Szenyezett minták száma	103	103	103	103
Igaz pozitív minták száma	34	92	45	103
Igaz negatív minták száma	27	29	28	46
Hamis negatív minták száma	69	11	58	0
Hamis pozitív minták száma	20	18	19	1
Érzékenység (%)	33,0	89,3	43,7	100
Specifikusság (%)	57,4	61,7	59,6	97,9
Pontosság (%)	40,7	80,7	48,7	99,3

4.4.5. *Escherichia coli* O157:H7 előfordulása hazai nyers tejekben

Az előzőekben legalkalmasabbnak bizonyult két eljárással megvizsgáltuk egy hazai tejüzem összes beszállítójának nyers tejét (250 db mintát) *E. coli* O157:H7 jelenlétére (**4.19. táblázat**). Az US FDA BAM C módszer 65 esetben negatív eredményt mutatott, míg 185 db mintánál gyanús telepeket találtunk a szelektív agarlemezeken, amelyeket megerősítő vizsgálatoknak vetettünk alá. A Mini-VIDAS ECO rendszerrel egyértelműbb eredményt kaptunk, mert 249 db mintánál már 24 óra elteltével ismert volt a negatív eredmény, míg 1 db mintánál felmerült a pozitívítás gyanúja. Végül a 250 db mintából mindkét módszerrel csak ugyanabban az egy esetben tudtuk megerősíteni – Dryspot *E. coli* O157 latex agglutinációs teszt (Oxoid)

és Singlepath *E. coli* O157 immunkromatográfiás gyorseszteszt (Merck) segítségével – az *E. coli* O157:H7 jelenlétét. A Duopath *E. coli* O157 immunkromatográfiás gyorseszteszt (Merck) eredménye azt is egyértelművé tette, hogy ez az egyetlen pozitív minta verocitotoxinokat (VT1 és VT2) nem termelő *E. coli* O157:H7 törzset tartalmazott.

Egyesült államokbeli, egyiptomi, olasz, görög és török szerzők az *E. coli* O157:H7 általunk tapasztalathoz hasonlóan alacsony (0-0,75%) előfordulási gyakoriságát észlelték nyers tejekben, ill. nyers tejből készült sajtokban (Ansary és Kaspar, 1997; Aman és mtsai, 1998; Bonardi et al., 2000; Murinda és mtsai, 2002; Karns és mtsai, 2007; Solomakos és mtsai, 2009; Sancak és mtsai, 2015), míg brazil kutatók 618 db nyers tehéntej minta 1,3%-ában detektáltak *E. coli* O157:H7 jelenlétet (Fagundes és mtsai, 2012). Érdekes módon, cseh nyers tej minták pontosan ugyanekkora hányada (1,3%) tartalmazott verotoxikus *E. coli*-t, míg azonban a tehéntejekben egyáltalán nem fordult elő ez a kórokozó (0%), a kecsketej- és juhtejminták 6,3%-ából, ill. 4,4%-ából kimutatható volt (Bogdanovičová és mtsai, 2016).

4.19. táblázat: *Escherichia coli* O157:H7 kimutatása hazai nyers tej tételekből két módszerrel

Paraméter	US FDA BAM C	Mini-VIDAS ECO
	módszer	
Összes mintaszám	250	250
Negatív minták száma (1. lépés)	65	249
Gyanús minták száma (1. lépés)	185	1
Pozitív minták száma (2. lépés)	1	1
Igaz pozitív minták száma	1	1
Igaz negatív minták száma	65	249
Hamis negatív minták száma (nem bizonyítható)	0	0
Hamis pozitív minták száma	184	0

4.5. Teve-, tehén-, kecske- és juhtejből előállított ABT-típusú natúr savanyú tejtermékek hasznos mikrobiotájának hűtve tárolás alatti túlélése

4.5.1. *Streptococcus thermophilus* élősejt-számának változása probiotikus savanyú tejtermékek hűtve tárolása során

A 4.20. táblázat szemlélteti a *Strep. thermophilus* élősejt-számában hathetes hűtve tárolás alatt bekövetkezett változásokat. A sztreptokokkuszok a termékgyártás végére, ill. a tárolási periódus kezdetére jelentős élősejtszám-értéket ($> 4,8 \times 10^8$ cfu/ml) értek el mind a négy termékben, és a *Strep. thermophilus* volt a tárolási idő végén legnagyobb számban jelenlévő kultúrakomponens.

Látható, hogy a *Strep. thermophilus*-szám mindvégig, önmagában véve is meghaladta a minimálisan megkövetelt (10^7 cfu/g), kultúrából származó tejsavbaktérium-szám értékét (Magyar Élelmiszerkönyv Bizottság, 2004). Ez a megfigyelésünk összhangban van azokkal a beszámolókkal, amelyek a *Strep. thermophilus* nagyarányú túléléséről szólnak joghurtok és egyéb savanyú tejtermékek esetében. A kokkusz alakú joghurtbaktériumok akár 10^8 cfu/ml mennyiségben is képesek túlélni a 3-6 hétig tartó hűtve tárolást (Varga és mtsai, 2002; Antunes és mtsai, 2005; Kudelka, 2010; Shah és mtsai, 2016).

Kísérleti termékeink *Strep. thermophilus* élősejt-számában eltérő mértékű változások következtek be a 6 hetes tárolás alatt, mert míg a fermentált tevetejben 42 nap alatt nem csökkent ($P > 0,05$) a kokkusz alakú tejsavbaktériumok száma,

addig a másik három termékről ez nem volt elmondható. Legkisebb túlélési arányt (13,2%) a kecsketejből készült termékben figyeltünk meg a hűtve tárolás 42. napján. Ennél nagyobb ($P < 0,05$) értékeket kaptunk a juhtejből (30,2%) és a tehéntejből (55,0%) készült probiotikus savanyú tejekben, amelyek azonban egymástól is különböztek ($P < 0,05$) a *Strep. thermophilus* életképességét illetően.

4.20. táblázat: *Streptococcus thermophilus* élősejt-számának változása a négyféle tejből készült probiotikus (ABT-típusú) savanyú tejtermékek 4°C-os tárolása során

Tárolási idő (nap)	Tevetejből		Tehéntejből		Kecsquetejből		Juhtejből	
	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%
0	8,95 ± 0,13 ^{A,a}	100	8,68 ± 0,11 ^{A,b}	100	8,76 ± 0,14 ^{A,ab}	100	8,80 ± 0,22 ^{A,ab}	100
7	8,80 ± 0,03 ^{A,a}	70,8	8,70 ± 0,18 ^{AB,ab}	104,7	8,61 ± 0,06 ^{A,b}	70,8	8,74 ± 0,04 ^{A,a}	87,1
14	8,75 ± 0,32 ^{A,a}	63,1	8,68 ± 0,13 ^{A,a}	100,0	8,60 ± 0,31 ^{A,a}	69,2	8,75 ± 0,13 ^{A,a}	89,1
21	8,86 ± 0,09 ^{A,a}	81,3	8,50 ± 0,08 ^{AB,b}	66,1	8,66 ± 0,06 ^{A,b}	79,4	8,70 ± 0,25 ^{A,ab}	79,4
28	8,92 ± 0,11 ^{A,a}	93,3	8,52 ± 0,21 ^{AB,b}	69,2	8,63 ± 0,14 ^{A,b}	74,1	8,68 ± 0,24 ^{A,ab}	75,8
35	8,93 ± 0,21 ^{A,a}	95,5	8,50 ± 0,08 ^{AB,b}	66,1	8,10 ± 0,43 ^{AB,b}	21,9	8,58 ± 0,24 ^{AB,ab}	60,3
42	8,93 ± 0,16 ^{A,a}	95,5	8,42 ± 0,06 ^{B,b}	55,0	7,88 ± 0,21 ^{B,d}	13,2	8,28 ± 0,06 ^{B,c}	30,2

* Az adatok 6 mérés (3 párhuzamos × 2 ismétlés) átlag ± szórás-értékét jelölik

^{A,B} Az azonos oszlopban szereplő eltérő nagybetűk szignifikáns különbséget jeleznek ($P < 0,05$)

^{a-d} Az azonos sorban szereplő eltérő kisbetűk szignifikáns különbséget jeleznek ($P < 0,05$)

4.5.2. *Lactobacillus acidophilus* La-5 élősejt-számának változása probiotikus savanyú tejtermékek hűtve tárolása során

A különféle tej-alapanyagokból ABT-5 kultúrával készített probiotikus savanyú tejtermékek *Lb. acidophilus* La-5 élősejt-számának változását a **4.21. táblázatban** szemléltetjük. A *Lb. acidophilus* kezdeti élősejt-száma több mint két nagyságrenddel kisebb volt, mint a *Strep. thermophilus*-é, és a két faj (törzs) számbeli változásainak tendenciája is különbözött. A laktobacillusok esetében lassú és közel egyenletes mértékű pusztulást tapasztaltunk, amely azt eredményezte, hogy a 6. hét végén mért túlélési arányszámokat illetően nem volt különbség ($P > 0,05$) a termékek között. A fermentált kecsketejben a tárolás kezdetén szaporodóképes *Lb. acidophilus* sejteknek több mint egyharmada, a juhtejből készített termékben pedig kb. felük maradt életben a hathetes hűtve tárolást követően. Mindent egybevetve, a *Lb. acidophilus* La-5 számára nagyjából azonos túlélési feltételeket biztosított a négyféle alapanyagtej.

Eredményeink eltérnek a Ranadheera és mtsai (2012) által közöltektől, ők ugyanis a *Lb. acidophilus* La-5 élősejt-számának négy nagyságrendnyi csökkenéséről számoltak be kecsketejből AB típusú kultúrával készített natúr savanyú tejtermék esetében, négyhetes, 4°C-os tárolást követően. Egy másik kísérletben Nighswonger és mtsai (1996) szintén a *Lb. acidophilus* termékbeli élősejt-szám csökkenését ($P < 0,05$) tapasztalták 28 napig 5-7°C-on tárolt savanyú íróban és joghurtban.

4.21. táblázat: *Lactobacillus acidophilus* La-5 élősejt-számának változása a négyféle tejből készült probiotikus (ABT-típusú) savanyú tejtermékek 4°C-os tárolása során

Tárolási idő (nap)	készült fermentált ABT tej							
	Tevetejből		Tehéntejből		Kecsketejből		Juhtejből	
	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%
0	6,71 ± 0,29 ^{AB,a}	100	6,48 ± 0,44 ^{A,a}	100	6,46 ± 0,15 ^{A,a}	100	6,83 ± 0,21 ^{A,a}	100
7	6,64 ± 0,16 ^{AB,a}	85,1	6,46 ± 0,03 ^{A,a}	95,5	6,44 ± 0,08 ^{A,a}	95,5	6,66 ± 0,19 ^{A,a}	67,6
14	6,59 ± 0,09 ^{A,a}	75,8	6,39 ± 0,04 ^{A,b}	81,3	6,44 ± 0,17 ^{A,ab}	95,5	6,77 ± 0,13 ^{A,a}	87,1
21	6,68 ± 0,07 ^{A,a}	93,3	6,35 ± 0,23 ^{A,ab}	74,1	6,37 ± 0,07 ^{A,b}	81,3	6,72 ± 0,10 ^{A,a}	77,6
28	6,46 ± 0,16 ^{AB,ab}	56,2	6,47 ± 0,18 ^{A,ab}	97,7	6,27 ± 0,08 ^{AB,b}	64,6	6,62 ± 0,09 ^{A,a}	61,7
35	6,35 ± 0,11 ^{B,a}	43,7	6,38 ± 0,15 ^{A,a}	79,4	6,01 ± 0,17 ^{B,b}	35,5	6,55 ± 0,13 ^{A,a}	52,5
42	6,36 ± 0,35 ^{AB,a}	44,7	6,09 ± 0,55 ^{A,a}	40,7	6,01 ± 0,16 ^{B,a}	35,5	6,53 ± 0,40 ^{A,a}	50,1

* Az adatok 6 mérés (3 párhuzamos × 2 ismétlés) átlag ± szórás-értékét jelölik

^{A,B} Az azonos oszlopban szereplő eltérő nagybetűk szignifikáns különbséget jeleznek ($P < 0,05$)

^{a,b} Az azonos sorban szereplő eltérő kisbetűk szignifikáns különbséget jeleznek ($P < 0,05$)

4.5.3. *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 élősejt-számának változása probiotikus savanyú tejtermékek hűtve tárolása során

A *B. animalis* subsp. *lactis* Bb-12 élősejt-számában hathetes hűtve tárolás során bekövetkezett változásokat a **4.22. táblázat** mutatja. A bifidobaktériumok kezdeti élősejt-száma elérte, sőt többnyire nagymértékben meghaladta a táplálkozás-élettani szempontból kívánatosnak tartott 10^6 cfu/g értéket (Sanders és Huis in't Veld, 1999; Shah, 2000; Magyar Élelmiszerkönyv Bizottság, 2004; Kailasapathy és Champagne, 2011; Kechagia és mtsai, 2013). E tekintetben nem észleltünk különbséget ($P > 0,05$) a tevétejből és a két kiskérődző faj tejből előállított savanyú tejtermékek között, a tevétejből gyártott fermentált tejben viszont a másik három termékénél kb. fél nagyságrenddel kisebb kezdeti bifidobaktérium-számot ($P < 0,05$) tapasztaltunk.

A hűtve tárolás alatti életképesség-megőrzés szempontjából a kecsketej rosszabb feltételeket kínált a bifidobaktériumoknak, mint a másik három tej-alapanyag, ugyanis a tevé-, a juh- és a tevétejből készült probiotikus savanyú tejekben 6 hét alatt nem csökkent ($P > 0,05$) a bifidobaktériumok élősejt-száma, míg a kecsketej alapú termékben közel 80%-os pusztulást mértünk. A vázolt folyamatok azt eredményezték, hogy a kecsketej- és a tevétej-alapú termék gyakorlatilag azonos mennyiségű ($P > 0,05$) élő *B. animalis* subsp. *lactis* sejtet tartalmazott a 6. hét végén. Ezekhez képest mintegy fél nagyságrenddel nagyobb értéket ($P < 0,05$) regisztráltunk fermentált tehen-, ill. juhtej mintáinkban. A legvalószínűbb magyarázat az, hogy az alapanyagként felhasznált tevétej és juhtej szárazanyag-tartalma számottevően nagyobb volt, mint a kecsketejé és a tevétejé (**3.4. táblázat**), márpedig a bifidobaktériumok köztudottan igényesek a tápanyagellátásra: szaporodásukhoz és termékbeli túlélésükhöz szénhidrátokban és egyéb összetevőkben gazdag tápközeget igényelnek (Scardovi, 1986; Tamime és mtsai, 1995; Shah, 2011a,b).

A bifidobaktériumok savanyú tejtermékekben történő túléléséről megoszlik a kutatók véleménye. A fellelhető közleményekben szereplő adatok nagy szórást mutatnak, ugyanis míg egyesek szerint milliliterenként kevesebb mint 10^5 db bifidobaktérium sejt, addig mások szerint több mint 10^8 db sejt vészeli át a fermentált tejekben uralkodó erősen savas körülményeket (Abu-Taraboush és mtsai, 1998; Krász, 2002; Gueimonde és mtsai, 2004; Ranadheera és mtsai, 2012). Eredményeink egyezést mutattak Abu-Taraboush és mtsai (1998), Gueimonde és mtsai (2004), valamint Ranadheera és mtsai (2012) munkáival, melyek szerint a bifidobaktériumok egy nagyságrendet nem meghaladó mértékű pusztulása következik be a termékek 2-4 hetes tárolása során.

4.22. táblázat: *Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb-12* élősejt-számának változása a négyféle tejből készült probiotikus (ABT-típusú) savanyú tejtermékek 4°C-os tárolása során

Tárolási idő (nap)	Tevetejből		Tehéntejből		Kecskeetejből		Juhtejből	
	készült fermentált ABT tej							
	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%
0	6,39 ± 0,16 ^{A,b}	100	6,89 ± 0,04 ^{A,a}	100	7,00 ± 0,18 ^{A,a}	100	6,87 ± 0,17 ^{A,a}	100
7	6,35 ± 0,05 ^{A,b}	91,2	6,71 ± 0,43 ^{A,ab}	66,1	6,69 ± 0,09 ^{AB,a}	49,0	6,71 ± 0,25 ^{A,ab}	69,2
14	6,30 ± 0,04 ^{A,b}	81,3	6,78 ± 0,15 ^{A,a}	77,6	6,77 ± 0,32 ^{ABC,ab}	58,9	6,83 ± 0,05 ^{A,a}	91,2
21	6,27 ± 0,08 ^{A,b}	75,8	6,80 ± 0,09 ^{A,a}	81,3	6,62 ± 0,16 ^{AB,a}	41,7	6,88 ± 0,13 ^{A,a}	102,3
28	6,37 ± 0,06 ^{A,b}	95,5	6,82 ± 0,19 ^{A,a}	85,1	6,59 ± 0,52 ^{ABC,ab}	38,9	6,86 ± 0,05 ^{A,a}	97,7
35	6,39 ± 0,25 ^{A,ab}	100	6,81 ± 0,10 ^{A,a}	83,2	6,49 ± 0,11 ^{BC,b}	30,9	6,83 ± 0,13 ^{A,ab}	91,2
42	6,24 ± 0,06 ^{A,b}	70,8	6,83 ± 0,08 ^{A,a}	87,1	6,33 ± 0,10 ^{C,b}	21,4	6,80 ± 0,16 ^{A,a}	85,1

* Az adatok 6 mérés (3 párhuzamos × 2 ismétlés) átlag ± szórási-értékét jelölik

^{A-C} Az azonos oszlopban szereplő eltérő nagybetűk szignifikáns különbséget jeleznek ($P < 0,05$)

^{a,b} Az azonos sorban szereplő eltérő kisbetűk szignifikáns különbséget jeleznek ($P < 0,05$)

4.5.4. A probiotikus savanyú tejtermékek káros mikrobiotájának vizsgálata

Mikrobiológiai élelmiszer-biztonság szempontjából kifogástalan volt az előállított savanyú tejtermékek mindegyike, mert egyetlen minta sem tartalmazott élesztőgombákat, penészgombákat ($< 1,0 \times 10^0$ cfu/ml), vagy kóliform baktériumokat, beleértve az *E. coli*-t is ($< 3,0 \times 10^{-1}$ MPN/ml).

4.6. Akácméz-kiegészítés hatása a starterbaktériumok életképességének alakulására joghurt hűtve tárolása során

4.6.1. *Streptococcus thermophilus* élősejt-számának hűtve tárolás alatti alakulása natúr és akácmézes joghurtokban

A *Strep. thermophilus* élősejt-számának natúr (kontroll) és mézes joghurtokban, 4°C-os tárolás során bekövetkezett változásait a **4.23. táblázat** szemlélteti. Látható, hogy a mézadagolás nem befolyásolta ($P > 0,05$) a sztreptokokkuszos termékgyártás közbeni szaporodását, ill. hűtve tárolás alatti túlélését. Ez a megállapításunk nem támasztja alá Molan (1992a,b) megfigyelését, miszerint a méz gátló hatást fejt ki a *Streptococcus* nemzetség egyes fajaira, jöllehet az idézett szerző nem közölte az általa alkalmazott mézkoncentráció(ka)t. Kísérleti joghurtjainkban a *Strep. thermophilus* kellően nagy számban ($> 10^8$ cfu/ml) volt jelen a hathetes tárolási periódus teljes időtartama alatt, így egymagában is mindvégig teljesítette a Magyar Élelmiszerkönyv által savanyú tejtermékektől a fogyasztás időpontjában minimálisan megkövetelt 10^7 cfu/g, kultúrából származó tejsavbaktérium élősejt-szám értéket (Magyar Élelmiszerkönyv Bizottság, 2004).

4.23. táblázat: *Streptococcus thermophilus* élősejt-számának 4°C-os tárolás alatti alakulása natúr (kontroll) és mézes joghurtokban

Idő (nap)	Natúr termék		3,0% (w/v)						5,0% (w/v)	
			1,0% (w/v)				mézet tartalmazó termék			
	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%		
0	8,72 ± 0,18 ^a	100	8,75 ± 0,18 ^a	100	8,81 ± 0,23 ^a	100	8,79 ± 0,26 ^a	100		
7	8,69 ± 0,15 ^a	92,5	8,75 ± 0,19 ^a	100	8,64 ± 0,16 ^a	67,7	8,79 ± 0,25 ^a	100		
14	8,56 ± 0,16 ^a	67,9	8,71 ± 0,16 ^a	91,1	8,62 ± 0,24 ^a	64,6	8,69 ± 0,17 ^a	79,0		
21	8,48 ± 0,19 ^a	56,6	8,48 ± 0,31 ^a	53,6	8,51 ± 0,30 ^a	49,2	8,48 ± 0,23 ^a	48,4		
28	8,72 ± 0,22 ^a	100	8,65 ± 0,20 ^a	80,4	8,64 ± 0,22 ^a	67,7	8,60 ± 0,19 ^a	64,5		
35	8,67 ± 0,18 ^a	88,7	8,59 ± 0,19 ^a	69,6	8,68 ± 0,21 ^a	73,8	8,53 ± 0,20 ^a	54,8		
42	8,30 ± 0,15 ^a	37,7	8,32 ± 0,12 ^a	37,5	8,36 ± 0,30 ^a	35,4	8,28 ± 0,26 ^a	30,6		

* Az adatok 6 mérés (3 párhuzamos × 2 ismétlés) átlag ± szórás-értékét jelölik

^a Az ugyanabban a sorban szereplő azonos betűjelzésű átlagok nem térnek el szignifikánsan egymástól ($P > 0,05$)

4.6.2. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* élősejt-számának hűtve tárolás alatti alakulása natúr és akácmézes joghurtokban

Noha a *Lb. bulgaricus* kezdeti élősejt-száma mintegy 0,4 nagyságrenddel elmaradt a *Strep. thermophilus*-étól (**4.24. táblázat**), még így is jóval meghaladta az említett 10⁷ cfu/g-os küszöbértéket (Magyar Élelmiszerkönyv Bizottság, 2004). A mézadagolás nem befolyásolta ($P > 0,05$) a *Lb. bulgaricus* életképességének tárolás alatti alakulását, ugyanis a hathetes hűtve tárolást a kiinduláskor szaporodóképes laktobacillus sejteknek egyaránt kb. 40%-a (36,3-42,3%) élte túl a termékekben. Sert és mtsai (2011) viszont arról számoltak be, hogy 4-6% méz jelenléte mérsékli a *Lb. bulgaricus* pusztulási ütemét joghurtok négyhetes, 4°C-os tárolása során.

4.24. táblázat: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* élősejt-számának 4°C-os tárolás alatti alakulása natúr (kontroll) és mézes joghurtokban

Idő (nap)	Natúr termék		1,0% (w/v)		3,0% (w/v)		5,0% (w/v)	
			mézet tartalmazó termék					
	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%
0	8,32 ± 0,17 ^a	100	8,38 ± 0,15 ^a	100	8,41 ± 0,26 ^a	100	8,36 ± 0,28 ^a	100
7	8,28 ± 0,23 ^a	90,5	8,30 ± 0,20 ^a	83,3	8,32 ± 0,17 ^a	80,8	8,28 ± 0,22 ^a	82,6
14	8,26 ± 0,21 ^a	85,7	8,15 ± 0,19 ^a	58,3	8,26 ± 0,23 ^a	69,2	8,17 ± 0,25 ^a	65,2
21	8,23 ± 0,23 ^a	81,0	8,26 ± 0,16 ^a	75,0	8,15 ± 0,15 ^a	53,8	8,20 ± 0,28 ^a	69,6
28	8,15 ± 0,16 ^a	66,7	8,23 ± 0,25 ^a	70,8	8,18 ± 0,27 ^a	57,7	8,11 ± 0,27 ^a	56,5
35	8,15 ± 0,14 ^a	66,7	8,08 ± 0,20 ^a	50,0	8,15 ± 0,23 ^a	53,8	8,18 ± 0,28 ^a	65,2
42	7,91 ± 0,15 ^a	38,6	7,94 ± 0,21 ^a	36,3	8,04 ± 0,19 ^a	42,3	7,93 ± 0,27 ^a	37,0

* Az adatok 6 mérés (3 párhuzamos × 2 ismétlés) átlag ± szórás-értékét jelölik

^a Az ugyanabban a sorban szereplő azonos betűjelzésű átlagok nem térnek el szignifikánsan egymástól ($P > 0,05$)

4.6.3. Termékazonos baktériumok élősejt-számának és arányának hűtve tárolás alatti alakulása natúr és akácmézes joghurtokban

Az előzőekben vázolt folyamatok eredőjeként, mind a négy kísérleti joghurt – legalább 6 héten keresztül – messzemenően megfelelt a vonatkozó mikrobiológiai követelményeknek, és egyetlen vizsgálati időpontban sem volt különbség ($P > 0,05$) az egyes termékek összes hasznos élősejt-számai között (**4.25. táblázat**). Eredményeink egybecsengnek Chick és mtsai (2001) közlésével, mely szerint 5% méz jelenléte nem befolyásolja ($P > 0,05$) a *Strep. thermophilus* és a *Lb. bulgaricus* szaporodását, ill. savtermelését 12% szárazanyag-tartalmú sovány tejben. Lényegében hasonló megállapításra jutottak Glušac és mtsai (2015) is, amikor 1% savófehérje-koncentrátumot és 2-4% akácméz tartalmazó sovány tejből gyártott

joghurtban vizsgálták a termékazonos tejsavbaktériumok túlélését háromhetes hűtve tárolás során.

4.25. táblázat: Termékazonos mikroorganizmusok[☆] élősejt-számának 4°C-os tárolás alatti alakulása natúr (kontroll) és mézes joghurtokban

Idő (nap)	Natúr termék		1,0% (w/v)		3,0% (w/v)		5,0% (w/v)	
	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%
0	8,87 ± 0,18 ^a	100	8,90 ± 0,18 ^a	100	8,96 ± 0,22 ^a	100	8,93 ± 0,26 ^a	100
7	8,83 ± 0,16 ^a	91,9	8,88 ± 0,19 ^a	95,0	8,81 ± 0,16 ^a	71,4	8,91 ± 0,25 ^a	95,3
14	8,73 ± 0,17 ^a	73,0	8,81 ± 0,15 ^a	81,3	8,78 ± 0,24 ^a	65,9	8,81 ± 0,16 ^a	75,3
21	8,67 ± 0,20 ^a	63,5	8,68 ± 0,28 ^a	60,0	8,66 ± 0,27 ^a	50,5	8,66 ± 0,23 ^a	54,1
28	8,83 ± 0,22 ^a	90,5	8,79 ± 0,21 ^a	77,5	8,77 ± 0,21 ^a	64,8	8,72 ± 0,17 ^a	62,4
35	8,79 ± 0,18 ^a	82,4	8,71 ± 0,19 ^a	63,8	8,79 ± 0,21 ^a	68,1	8,69 ± 0,20 ^a	57,6
42	8,45 ± 0,15 ^a	37,8	8,48 ± 0,11 ^a	37,5	8,53 ± 0,28 ^a	37,4	8,45 ± 0,26 ^a	32,9

[☆] *Streptococcus thermophilus* és *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* összegzett élősejt-száma, a 4.23. és 4.24. táblázatban feltüntetett értékekből számítással meghatározva

* Az adatok 6-6 mérés (3-3 párhuzamos × 2-2 ismétlés) átlag ± szórás-értékét jelölik

^a Az ugyanabban a sorban szereplő azonos betűjelzésű átlagok nem térnek el szignifikánsan egymástól ($P > 0,05$)

A kókuszt-pálca arány alakulásában nem fedeztünk fel semmiféle törvényszerűséget. A kalkulált értékek minden egyes vizsgálati időpontban és mind a négy termék esetében eltértek az optimálisnak tekintett 1:1 aránytól, mert a sztreptokokkuszok száma a laktobacillusokénak minimum 1,7-szerese, ill. maximum 3,8-szerese volt. Ennek legvalószínűbb magyarázata az, hogy míg a *Strep. thermophilus* egyenként akár 15-20 db sejtből álló, hosszú láncokat is képezhet, addig a *Lb. bulgaricus* láncait jellemzően 3-4 db sejt alkotja; és ha a hígítási sor készítése, valamint a lemezöntés során a láncok felaprózódnak, a várt 1:1 körüli arány jelentősen eltolódhat a sztreptokokkuszok javára, ezért az élősejt-szám meghatározási vizsgálatok azt mutathatják, hogy a joghurt mikrobiotája 75-85%-ban *Strep. thermophilus* sejtekből áll (Robinson, 2011b).

4.6.4. Joghurtok káros mikrobiotájának vizsgálata

A joghurt és a méz kis oxigéntartalma, savas kémhatása, ill. antimikrobás anyagai gátolják egyes patogén és termékromlást okozó mikrobák élettevékenységét (Northolt, 1983; Molan, 1992a; Taormina és mtsai, 2001; Mundo és mtsai, 2004; Sah és mtsai, 2016). Ebből adódóan, továbbá a higiéniai előírások betartásának köszönhetően mind a négyféle joghurtunk mikrobiológiai minősége kifogástalan volt, mert egyetlen megvizsgált mintában sem fordult elő kimutatható mennyiségű élesztő- és penészgomba ($< 1,0 \times 10^0$ cfu/ml), valamint kóliform baktérium, beleértve az *E. coli*-t is ($< 3,0 \times 10^{-1}$ MPN/ml).

Ami az érzékszervi tulajdonságokat illeti, az 1% mézet tartalmazó joghurt íze nem volt eléggé karakteres, az 5% méztartalmú termék viszont már túlzottan édesnek bizonyult. Legjobb organoleptikus sajátságokkal a 3% akácmézzel kiegészített joghurt rendelkezett. Sert és mtsai (2011) hasonlóan, 4%-ban határozták meg a joghurthoz adandó méz érzékszervi szempontból optimális mennyiségét.

4.7. Teve- és tehéntejből előállított, mézzel kiegészített ABT-típusú savanyú tejtermékek hasznos mikrobiotájának hűtve tárolás alatti túlélése

4.7.1. *Streptococcus thermophilus* élősejt-számának hűtve tárolás alatti alakulása tevetejből, illetve tehéntejből készített natúr és akácméz-es probiotikus savanyú tejtermékekben

A *Strep. thermophilus* élősejt-számában öthetes tárolás alatt bekövetkezett változásokat a **4.26. táblázat** szemlélteti. Látnivaló, hogy 5% akácméz-adagolásnak se a tevetejben, se a tehéntejben nem volt számottevő hatása a kokkusz alakú starterbaktériumok szaporodására, valamint életképességére a fermentáció, ill. a savanyú tejtermékek azt követő tárolása során. Ez a megállapítás látszólag ellentmond Molan (1992a) már említett megfigyelésének, miszerint a méz – pontosan nem közölt koncentrációban – gátló hatást fejt ki számos *Streptococcus* fajra. Korábbi vizsgálataink (Varga, 2006; Süle és Varga, 2009) eredményével összhangban, savanyú tejtermékeinkben ezúttal is mindvégig a *Strep. thermophilus* volt a legnagyobb mennyiségben jelenlévő kultúraalkotó, melynek $8,80 \log_{10}$ cfu/ml és $9,04 \log_{10}$ cfu/ml között változó élősejt-száma (**4.26. táblázat**) egymagában több mint 60-szorosan (esetenként akár 100-szorosan) felülmúlta a Magyar Élelmiszerkönyv által savanyú tejtermékektől minimálisan megkövetelt, grammonkénti 10^7 , kultúrából származó tejsavbaktérium-szám értékét (Magyar Élelmiszerkönyv Bizottság, 2004).

4.26. táblázat: *Streptococcus thermophilus* élősejt-számának változása tevetejből, illetve tehéntejből készített natúr (kontroll) és akácméz-es probiotikus (ABT-típusú) savanyú tejtermékek 4°C-os tárolása során

Tárolási idő (nap)	Tevetejből készült				Tehéntejből készült			
	natúr		akácméz-es		natúr		akácméz-es	
	ABT-típusú savanyú tejtermék							
	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%
0	9,03 ± 0,06 ^a	100	9,01 ± 0,06 ^a	100	8,94 ± 0,12 ^a	100	8,97 ± 0,12 ^a	100
7	8,88 ± 0,06 ^a	70,0	8,86 ± 0,07 ^a	74,0	8,80 ± 0,03 ^a	69,2	8,86 ± 0,20 ^a	78,4
14	8,97 ± 0,02 ^a	84,5	8,98 ± 0,03 ^a	96,0	8,87 ± 0,02 ^b	80,2	8,88 ± 0,03 ^b	77,3
21	8,99 ± 0,02 ^a	88,2	8,98 ± 0,04 ^a	96,0	8,86 ± 0,02 ^b	80,1	8,94 ± 0,04 ^a	90,7
28	8,98 ± 0,03 ^a	87,3	8,99 ± 0,10 ^{ab}	99,0	8,89 ± 0,03 ^b	84,6	8,92 ± 0,03 ^{ab}	85,6
35	8,87 ± 0,14 ^a	70,0	9,04 ± 0,10 ^a	110,0	8,92 ± 0,19 ^a	98,9	8,93 ± 0,03 ^a	87,6

* Az adatok 6 mérés (3 párhuzamos $\times$ 2 ismétlés) átlag $\pm$ szórás-értékét jelölik

^{a,b} Az azonos sorban szereplő eltérő kisbetűk szignifikáns különbséget jeleznek ($P < 0,05$)

4.7.2. *Lactobacillus acidophilus* La-5 élősejt-számának hűtve tárolás alatti alakulása tevetejből, illetve tehéntejből készített natúr és akácméz-es probiotikus savanyú tejtermékekben

A kétfajta tej-alapanyagból ABT-5 kultúrával készült négyféle savanyú tejtermék *Lb. acidophilus* La-5 élősejt-számának alakulását a **4.27. táblázat** mutatja. Eszerint a laktobacilluszok kezdeti sejtszáma átlagosan kb. másfél nagyságrenddel kisebb volt a sztreptokokkuszokénál. Az is szembeötlő, hogy a mézkiegészítés nélküli tehéntej jobb körülményeket ($P < 0,05$) biztosított a *Lb. acidophilus* La-5 elszaporodásához, mint a kontroll tevetej, 5% akácméz jelenléte azonban jelentősen javította a laktobacilluszok szaporodási feltételeit a tevetejben.

A 35. napon mért élősejt-számokat illetően nem volt jelentős eltérés a négy termék között. Kontroll mintáinkban 0,25-0,56, méztartalmú termékeinkben pedig 0,32-0,57 nagyságrendű laktobacillusz pusztulást tapasztaltunk a hűtve tárolás 5

hete alatt, ami összhangban van Macedo és mtsai (2008) vizsgálati eredményével, miszerint a *Lb. acidophilus* élősejt-száma 0,31 és 0,44 nagyságrenddel csökken 7°C-on 35 napig tárolt natúr, ill. mézes savanyú tejekben.

4.27. táblázat: *Lactobacillus acidophilus* La-5 élősejt-számának változása tevetejből, illetve tehéntejből készült natúr (kontroll) és akácmézes probiotikus (ABT-típusú) savanyú tejtermékek 4°C-os tárolása során

Tárolási idő (nap)	Tevetejből készült				Tehéntejből készült			
	natúr		akácmézes		natúr		akácmézes	
	ABT-típusú savanyú tejtermék							
	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%
0	7,11 ± 0,13 ^c	100	7,58 ± 0,11 ^a	100	7,59 ± 0,30 ^{ab}	100	7,29 ± 0,09 ^{bc}	100
7	7,03 ± 0,20 ^{ab}	88,5	7,25 ± 0,02 ^a	46,2	7,21 ± 0,04 ^{ab}	34,8	7,19 ± 0,01 ^b	80,0
14	6,98 ± 0,03 ^b	73,8	7,25 ± 0,02 ^a	46,2	7,20 ± 0,06 ^a	34,8	7,11 ± 0,15 ^{ab}	65,0
21	6,96 ± 0,02 ^b	71,5	7,10 ± 0,16 ^{ab}	33,3	7,32 ± 0,14 ^a	45,7	7,20 ± 0,08 ^a	80,0
28	6,96 ± 0,04 ^b	70,8	7,18 ± 0,09 ^a	38,5	7,31 ± 0,12 ^a	45,7	7,29 ± 0,34 ^{ab}	100,0
35	6,86 ± 0,06 ^b	56,2	7,01 ± 0,13 ^{ab}	28,2	7,03 ± 0,02 ^a	23,9	6,97 ± 0,16 ^{ab}	48,5

* Az adatok 6 mérés (3 párhuzamos × 2 ismétlés) átlag ± szórás-értékét jelölik

^{a-c} Az azonos sorban szereplő eltérő kisbetűk szignifikáns különbséget jeleznek ($P < 0,05$)

4.7.3. *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 élősejt-számának hűtve tárolás alatti alakulása tevetejből, illetve tehéntejből készített natúr és akácmézes probiotikus savanyú tejtermékekben

A *B. animalis* subsp. *lactis* Bb-12 életképességében öthetes hűtve tárolás során bekövetkezett változásokat szemléltető **4.28. táblázat** tanúsága szerint a bifidobaktériumok kezdeti élősejt-száma csaknem másfél nagyságrenddel meghaladta a táplálkozás-élettani jótétemények kifejtéséhez minimálisan szükségesnek tartott 10⁶ cfu/g értéket (Sanders és Huis in't Veld, 1999; Shah, 2000; Magyar Élelmiszerkönyv Bizottság, 2004; Kailasapathy és Champagne, 2011; Kechagia és mtsai, 2013). E tekintetben nem észleltünk különbséget ($P > 0,05$) a kétféle tejből előállított natúr (kontroll), ill. méztartalmú termékek között.

Nem teljesen váratlanul (Abu-Taraboush és mtsai, 1998; Gueimonde és mtsai, 2004; Varga és mtsai, 2014), mégis valamelyest meglepő módon, a 35 napos tárolás során egyik termékünkben sem változott jelentős mértékben a bifidobaktériumok élősejt-száma. Különösen figyelemre méltó fejlemény, hogy 5% akácméz jelenléte mindkét savanyú tejtermékben javította ($P < 0,05$) a bifidobaktériumok életképességét, vagyis a méztartalmú fermentált tejekben nagyobb élősejt-számokat mértünk a tárolási periódus 14. és 35. napja között, mint a tárolás kezdetén (**4.28. táblázat**). Eredményeink összhangban vannak azokkal a korábbi megfigyelésekkel, amelyek szerint minimum 5% mézkiegészítés késlelteti ($P < 0,05$) a bifidobaktériumok pusztulását hűtve tárolt, tehéntej alapú probiotikus savanyú tejtermékekben (Ustunol és Gandhi, 2001; Süle és Varga, 2009; Riazi és Ziar, 2012). A méz azért gyakorol kedvező hatást a bifidobaktériumok anyagcseréjére, mert jelentős glükóz- és fruktóztartalma mellett prebiotikus hatású oligoszacharidok is előfordulnak benne (Ustunol és Gandhi, 2001; Bogdanov, 2011; Saha, 2015). Shin és Ustunol (2005) szerint a mézek oligoszacharid-tartalma – fajtájuktól, ill. eredetüktől függően – változó, és akár 4-11%-ot is elérhet.

4.28. táblázat: *Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb-12* élősejt-számának változása tevetejből, illetve tehéntejből készült natúr (kontroll) és akácmézés probiotikus (ABT-típusú) savanyú tejtermékek 4°C-os tárolása során

Tárolási idő (nap)	Tevetjéből készült				Tehéntejből készült			
	natúr		akácmézes		natúr		akácmézes	
	ABT-típusú savanyú tejtermék							
	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%
0	7,38 ± 0,04 ^a	100	7,36 ± 0,05 ^a	100	7,41 ± 0,21 ^a	100	7,49 ± 0,23 ^a	100
7	7,27 ± 0,23 ^{ab}	83,3	7,49 ± 0,20 ^a	143,5	7,13 ± 0,12 ^b	50,0	7,41 ± 0,11 ^a	76,5
14	7,26 ± 0,05 ^b	75,0	7,56 ± 0,02 ^a	156,5	7,18 ± 0,05 ^b	53,6	7,53 ± 0,04 ^a	102,1
21	7,03 ± 0,02 ^b	45,6	7,47 ± 0,10 ^a	130,4	7,31 ± 0,21 ^a	78,6	7,55 ± 0,08 ^a	105,9
28	7,16 ± 0,05 ^b	62,5	7,52 ± 0,14 ^a	152,2	7,22 ± 0,15 ^b	60,7	7,58 ± 0,16 ^a	117,6
35	7,05 ± 0,05 ^c	45,8	7,38 ± 0,05 ^b	104,3	7,29 ± 0,42 ^{abc}	96,4	7,63 ± 0,06 ^a	126,5

* Az adatok 6 mérés (3 párhuzamos × 2 ismétlés) átlag ± szórás-értékét jelölik

^{a-c} Az azonos sorban szereplő eltérő kisbetűk szignifikáns különbséget jeleznek ($P < 0,05$)

4.7.4. A probiotikus savanyú tejtermékek káros mikrobiotájának vizsgálata

Ahogy a 4.6.4. alfejezetben már szó esett róla, a savanyú tejtermékek és a méz savas kémhatása, kis oxigéntartalma, valamint antimikrobás anyagai gátolják bizonyos szennyező és kórokozó mikroorganizmusok élettevékenységét (Northolt, 1983; Molan, 1992a; Taormina és mtsai, 2001; Mundo és mtsai, 2004; Sah és mtsai, 2016). Ennek a ténynek, ill. a higiéniai előírások betartásának köszönhetően, mind a négy kísérleti termékünk kifogástalannak bizonyult mikrobiológiai élelmiszerbiztonság szempontjából, mert egyetlen megvizsgált mintájuk sem tartalmazott kimutatható mennyiségű penészgombát, élesztőgombát ($< 1,0 \times 10^0$ cfu/ml), *E. coli*, vagy kóliform baktériumot ($< 3,0 \times 10^{-1}$ MPN/ml).

4.8. Oligofruktóz és inulin hatása egy ABT-típusú savanyú tejtermék hasznos mikrobiotájának hűtve tárolás alatti alakulására

4.8.1. *Streptococcus thermophilus* élősejt-számának hűtve tárolás alatti alakulása kontroll, illetve oligofruktózzal vagy inulinnal kiegészített tehéntejből készült ABT-típusú savanyú tejtermékekben

A 4.29. és 4.30. táblázat a *Strep. thermophilus* élősejt-számában 4°C-os terméktárolás során bekövetkezett változásokat szemlélteti. Se az oligofruktóz-, se az inulin-adagolásnak nem volt hatása ($P > 0,05$) a kokkusz alakú starterkomponensre a fermentáció, ill. az azt követő 42 napos tárolási idő alatt. Ez esetben is a *Strep. thermophilus* volt a tárolás kezdetén legjelentősebb számban jelenlévő és a tárolás végén legnagyobb részarányban megmaradó kultúrakomponens. A hathetes hűtve tárolás csupán 13-30%-kal csökkentette a sztreptokokkuszok életképességét, mennyiségük így mindvégig, önmagában véve is sokszorosan meghaladta a Magyar Élelmiszerkönyv által savanyú tejtermékektől a fogyasztás időpontjában minimálisan megkövetelt, grammonkénti tízmilliós, kultúrából származó tejsavbaktérium élősejt-szám értéket (Magyar Élelmiszerkönyv Bizottság, 2004).

Paseephol és Sherkat (2009), valamint Al-Sheraji és mtsai (2012) szintén azt tapasztalták, hogy a *Strep. thermophilus* szaporodását és hagyományos, ill. probiotikus joghurtokban 4°C-on, 28 napos tárolás során megfigyelhető életképességét nem befolyásolja ($P > 0,05$) 0,75-4% inulin, ill. 4% oligofruktóz jelenléte.

4.29. táblázat: *Streptococcus thermophilus* élősejt-számának alakulása kontroll és oligofruktóz-tartalmú ABT-típusú savanyú tejtermékek 4°C-os tárolása során

Idő (nap)	Kontroll termék		oligofruktózt tartalmazó termék					
			1,0% (w/v)		3,0% (w/v)		5,0% (w/v)	
	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%
0	8,73 ± 0,31	100	8,65 ± 0,22	100	8,67 ± 0,21	100	8,77 ± 0,02	100
7	8,67 ± 0,03	87,1	8,68 ± 0,10	107,2	8,72 ± 0,03	112,2	8,69 ± 0,28	83,2
14	8,55 ± 0,22	66,1	8,68 ± 0,06	107,2	8,70 ± 0,07	107,2	8,54 ± 0,12	58,9
21	8,56 ± 0,06	67,6	8,53 ± 0,13	75,9	8,72 ± 0,11	112,2	8,54 ± 0,18	58,9
28	8,65 ± 0,06	83,2	8,57 ± 0,11	83,2	8,62 ± 0,05	89,1	8,63 ± 0,11	72,4
35	8,64 ± 0,03	81,3	8,48 ± 0,25	67,6	8,67 ± 0,14	100,0	8,58 ± 0,08	64,6
42	8,58 ± 0,11	70,8	8,53 ± 0,02	75,9	8,61 ± 0,05	87,1	8,63 ± 0,13	72,4

* Az adatok 9 mérés (3 párhuzamos × 3 ismétlés) átlag ± szórás-értékét jelölik

Az ugyanabban a sorban szereplő, nem félkövéren szedett számok azt jelzik, hogy az adott élősejt-szám átlagérték nem tér el szignifikánsan ($P > 0,05$) a vonatkozó kontrolltól

4.30. táblázat: *Streptococcus thermophilus* élősejt-számának alakulása kontroll és inulintartalmú ABT-típusú savanyú tejtermékek 4°C-os tárolása során

Idő (nap)	Kontroll termék		inulint tartalmazó termék					
			1,0% (w/v)		3,0% (w/v)		5,0% (w/v)	
	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%
0	8,72 ± 0,30	100	8,65 ± 0,22	100	8,68 ± 0,22	100	8,78 ± 0,16	100
7	8,69 ± 0,15	93,3	8,69 ± 0,18	109,6	8,72 ± 0,21	109,6	8,75 ± 0,27	93,3
14	8,55 ± 0,14	67,6	8,68 ± 0,19	107,2	8,71 ± 0,18	107,2	8,53 ± 0,08	56,2
21	8,60 ± 0,17	75,9	8,55 ± 0,22	79,4	8,74 ± 0,12	114,8	8,55 ± 0,18	58,9
28	8,68 ± 0,16	91,2	8,57 ± 0,11	83,2	8,64 ± 0,14	91,2	8,64 ± 0,19	72,4
35	8,64 ± 0,23	83,2	8,54 ± 0,16	77,6	8,69 ± 0,13	102,3	8,59 ± 0,09	64,6
42	8,57 ± 0,12	70,8	8,55 ± 0,10	79,4	8,61 ± 0,16	85,1	8,63 ± 0,18	70,8

* Az adatok 9 mérés (3 párhuzamos × 3 ismétlés) átlag ± szórás-értékét jelölik

Az ugyanabban a sorban szereplő, nem félkövéren szedett számok azt jelzik, hogy az adott élősejt-szám átlagérték nem tér el szignifikánsan ($P > 0,05$) a vonatkozó kontrolltól

4.8.2. *Lactobacillus acidophilus* La-5 élősejt-számának hűtve tárolás alatti alakulása kontroll, illetve oligofruktózzal vagy inulinnal kiegészített tehéntejből készült ABT-típusú savanyú tejtermékekben

A *Lb. acidophilus* kiindulási élősejt-száma mintegy másfél nagyságrenddel elmaradt a *Strep. thermophilus*-étól (4.31. és 4.32. táblázat). A kezdeti stagnálást itt is lassú, egyenletes csökkenés követte, és az oligofruktóznak, valamint az inulinnak nem volt hatása ($P > 0,05$) a laktobacilluszok életképességére. Ez a megállapításunk összhangban van Bozanic és mtsai (2001), továbbá Mituniewicz-Malek és mtsai (2014) vizsgálati eredményeivel, miszerint az inulin nem serkenti a *Lb. acidophilus* La-5 szaporodását és nem javítja ugyanennek a törzsnek 5°C-os, 21-28 napos tárolás alatti túlélését tehén-, juh-, ill. kecsketejből készített savanyú tejtermékekben.

4.31. táblázat: *Lactobacillus acidophilus* La-5 élősejt-számának alakulása kontroll és oligofruktóz-tartalmú ABT-típusú savanyú tejtermékek 4°C-os tárolása során

Idő (nap)	Kontroll termék		oligofruktózt tartalmazó termék					
			1,0% (w/v)		3,0% (w/v)		5,0% (w/v)	
	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%
0	7,04 ± 0,13	100	7,14 ± 0,32	100	7,19 ± 0,21	100	7,32 ± 0,30	100
7	7,05 ± 0,15	102,3	7,13 ± 0,24	97,7	7,15 ± 0,07	91,2	7,25 ± 0,10	85,1
14	6,97 ± 0,22	85,1	7,06 ± 0,11	83,2	7,08 ± 0,19	77,6	7,18 ± 0,20	72,4
21	7,00 ± 0,16	91,2	7,02 ± 0,11	75,9	7,11 ± 0,08	83,2	7,08 ± 0,08	57,5
28	7,03 ± 0,10	97,7	7,12 ± 0,11	95,5	7,11 ± 0,03	83,2	7,07 ± 0,10	56,2
35	6,85 ± 0,20	94,6	6,88 ± 0,06	55,0	6,89 ± 0,28	50,1	6,97 ± 0,03	44,7
42	6,68 ± 0,14	43,7	6,57 ± 0,08	26,9	6,57 ± 0,09	24,0	6,90 ± 0,08	38,0

* Az adatok 9 mérés (3 párhuzamos × 3 ismétlés) átlag ± szórás-értékét jelölik

Az ugyanabban a sorban szereplő, nem félkövéren szedett számok azt jelzik, hogy az adott élősejt-szám átlagérték nem tér el szignifikánsan ($P > 0,05$) a vonatkozó kontrolltól

4.32. táblázat: *Lactobacillus acidophilus* La-5 élősejt-számának alakulása kontroll és inulintartalmú ABT-típusú savanyú tejtermékek 4°C-os tárolása során

Idő (nap)	Kontroll termék		inulint tartalmazó termék							
			1,0% (w/v)		3,0% (w/v)		5,0% (w/v)			
	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%		
0	7,05 ± 0,28	100	7,15 ± 0,27	100	7,11 ± 0,16	100	7,35 ± 0,36	100		
7	7,01 ± 0,27	91,2	7,13 ± 0,24	95,5	7,16 ± 0,17	112,2	7,25 ± 0,27	79,4		
14	6,95 ± 0,25	79,4	7,07 ± 0,19	83,2	7,08 ± 0,19	93,3	7,18 ± 0,23	67,6		
21	7,00 ± 0,17	89,1	7,02 ± 0,09	74,1	7,11 ± 0,18	100,0	7,06 ± 0,28	51,3		
28	7,03 ± 0,18	95,5	7,05 ± 0,19	79,4	7,10 ± 0,17	97,7	7,07 ± 0,19	52,5		
35	6,88 ± 0,22	67,6	6,88 ± 0,06	53,7	6,86 ± 0,15	56,2	6,87 ± 0,13	33,1		
42	6,68 ± 0,24	42,7	6,57 ± 0,17	26,3	6,57 ± 0,19	28,8	6,92 ± 0,26	37,2		

* Az adatok 9 mérés (3 párhuzamos × 3 ismétlés) átlag ± szórás-értékét jelölik

Az ugyanabban a sorban szereplő, nem félkövéren szedett számok azt jelzik, hogy az adott élősejt-szám átlagérték nem tér el szignifikánsan ($P > 0,05$) a vonatkozó kontrolltól

4.8.3. *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 élősejt-számának hűtve tárolás alatti alakulása kontroll, illetve oligofruktózzal vagy inulinnal kiegészített tehéntejből készült ABT-típusú savanyú tejtermékekben

A *B. animalis* subsp. *lactis* Bb-12 kezdeti élősejt-száma elmaradt a humán-egészségügyi jótétemények kifejtéséhez minimálisan szükséges 10^6 cfu/g értéktől, és a savas kémhatású közeg jelentősen pusztítóbb hatást gyakorolt a tárolás során a bifidobaktériumokra, mint a két tejsavbaktérium törzsre (**4.33. és 4.34. táblázat**). Ez utóbbi fejlemény nem volt teljesen váratlan, mert a *Bifidobacterium* fajok többnyire rosszul tolerálják a kis pH-értékű (5,0 alatti) közegeket (Scardovi, 1986; Biavati és mtsai, 2000; Shah, 2011a). Viszont, a tejsavbaktériumoknál tapasztaltaktól eltérően, az oligofruktóz adagolása jelentősen késleltette ($P < 0,05$) a bifidobaktériumok pusztulását. 1% oligofruktóz jelenléte csak a tárolási időszak második felében segítette ($P < 0,05$) a *B. animalis* subsp. *lactis* Bb-12 túlélését, legalább 3% oligofruktóz alkalmazása esetén azonban már a tárolási idő elejétől fogva megmutatkozott a kedvező hatás. Az inulin ilyen jellegű jótéteményei mérsékeltebbek voltak, mert csak 5%-os mennyiségben, és csupán a tárolás 4. hetétől kezdődően késleltette ($P < 0,05$) a *B. animalis* subsp. *lactis* Bb-12 termékbeli pusztulását.

Eredményeink alátámasztják Shin és mtsainak (2000) azt a megállapítását, hogy a *B. bifidum* Bf-1 és Bf-6 törzs szaporodását és termékbeli életképességét az oligofruktóz jelentősebb mértékben stimulálja, mint az inulin, és hogy ez a serkentőképeségbeli különbség valószínűleg a két fruktánféleség polimerizációs fokának eltérésére (oligofruktóz: < 10 , inulin: > 10) vezethető vissza. Al-Sheraji és mtsai (2012) viszont azt közölték, hogy már 0,75% inulin jelenléte is jelentősen csökkenti ($P < 0,05$) a *B. longum* BB 536 és a *B. pseudocatenulatum* G4 pusztulási ütemét 4 héten keresztül 4°C-on tárolt probiotikus joghurtokban.

4.33. táblázat: *Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb-12* élősejt-számának alakulása kontroll és oligofruktóz-tartalmú ABT-típusú savanyú tejtermékek 4°C-os tárolása során

Idő (nap)	Kontroll termék		oligofruktózt tartalmazó termék					
			1,0% (w/v)		3,0% (w/v)		5,0% (w/v)	
	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%
0	5,50 ± 0,12	100	5,58 ± 0,07	100	5,65 ± 0,08	100	5,84 ± 0,08	100
7	5,39 ± 0,10	77,6	5,48 ± 0,13	79,4	5,57 ± 0,04	83,2	5,79 ± 0,13	89,1
14	5,24 ± 0,08	55,0	5,35 ± 0,11	58,9	5,47 ± 0,10	66,1	5,73 ± 0,18	77,6
21	5,01 ± 0,10	32,4	5,16 ± 0,04	38,0	5,35 ± 0,14	50,1	5,66 ± 0,11	66,1
28	4,52 ± 0,08	10,5	4,77 ± 0,10	15,5	5,20 ± 0,13	35,5	5,59 ± 0,07	56,2
35	4,28 ± 0,12	6,0	4,59 ± 0,15	10,2	5,07 ± 0,05	26,3	5,50 ± 0,18	45,7
42	4,04 ± 0,11	3,5	4,39 ± 0,07	6,5	4,91 ± 0,19	18,2	5,38 ± 0,08	34,7

* Az adatok 9 mérés (3 párhuzamos × 3 ismételés) átlag ± szórási-értékét jelölik

Az ugyanabban a sorban szereplő, **félkövérén szedett számok** azt jelzik, hogy az adott élősejt-szám átlagérték szignifikánsan eltér ($P < 0,05$) a vonatkozó kontrolltól

4.34. táblázat: *Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb-12* élősejt-számának alakulása kontroll és inulintartalmú ABT-típusú savanyú tejtermékek 4°C-os tárolása során

Idő (nap)	Kontroll termék		3,0% (w/v)					
			1,0% (w/v)		3,0% (w/v)		5,0% (w/v)	
	inulint tartalmazó termék							
	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%	Log ₁₀ cfu/ml*	%
0	5,46 ± 0,22	100	5,46 ± 0,24	100	5,48 ± 0,18	100	5,46 ± 0,17	100
7	5,35 ± 0,10	77,3	5,37 ± 0,30	80,4	5,40 ± 0,09	83,1	5,41 ± 0,24	88,2
14	5,20 ± 0,26	54,8	5,22 ± 0,19	57,8	5,27 ± 0,22	62,3	5,29 ± 0,24	67,5
21	4,97 ± 0,20	32,5	5,01 ± 0,09	35,3	5,08 ± 0,19	39,6	5,11 ± 0,21	44,8
28	4,48 ± 0,27	10,5	4,55 ± 0,16	12,3	4,69 ± 0,22	16,3	4,86 ± 0,25	25,2
35	4,25 ± 0,18	6,2	4,34 ± 0,12	7,7	4,47 ± 0,30	9,7	4,57 ± 0,21	12,8
42	4,04 ± 0,25	3,8	4,11 ± 0,28	4,5	4,27 ± 0,24	6,2	4,38 ± 0,19	8,3

* Az adatok 9 mérés (3 párhuzamos × 3 ismételés) átlag ± szórási-értékét jelölik

Az ugyanabban a sorban szereplő, **félkövérén szedett számok** azt jelzik, hogy az adott élősejt-szám átlagérték szignifikánsan eltér ($P < 0,05$) a vonatkozó kontrolltól

4.8.4. A probiotikus savanyú tejtermékek káros mikrobiotájának vizsgálata

Az előző kísérletsorozatainkban tapasztaltakhoz hasonlóan, ezúttal is megfelelő volt mind a négy savanyú tejtermék higiéniai minősége, mert mintáinkban nem fordult elő kimutatható mennyiségű élesztő- és penészgomba ($< 1,0 \times 10^0$ cfu/ml), továbbá kóliform baktérium, ill. *E. coli* ($< 3,0 \times 10^{-1}$ MPN/ml).

4.9. *Arthrospira platensis* (Spirulina) biomassza hatása egy ABT-típusú savanyú tejtermék hasznos mikrobiotájának tárolás alatti alakulására

4.9.1. Terméktárolás 15°C-on

A kultúra eredetű mikroorganizmusok élősejt-számában, ill. túlélési arányában 15°C-os terméktárolás során bekövetkezett változásokat a **4.35. és 4.36. táblázat** szemlélteti.

4.35. táblázat: Kultúraalkotó mikroorganizmusok[☆] élősejt-számának alakulása *Spirulinával* (*Arthrospira platensis*) kiegészített és natúr (kontroll) ABT-típusú savanyú tejtermékek 15°C-os tárolása során

Tárolási idő (nap)	<i>Strep. thermophilus</i>		<i>Lb. acidophilus</i>		<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	
			élősejt-száma (log ₁₀ cfu/ml)*			
	spirulinás	natúr	spirulinás	natúr	spirulinás	natúr
ABT-típusú savanyú tejtermékben						
0	9,17 ± 0,10 ^a	9,03 ± 0,06 ^b	7,38 ± 0,07 ^a	7,11 ± 0,08 ^b	6,36 ± 0,08 ^a	6,19 ± 0,09 ^b
3	9,45 ± 0,15 ^a	9,26 ± 0,18 ^b	7,49 ± 0,07 ^a	7,27 ± 0,17 ^b	5,95 ± 0,12 ^a	5,64 ± 0,15 ^b
6	9,35 ± 0,12 ^a	9,15 ± 0,11 ^b	7,35 ± 0,08 ^a	7,20 ± 0,14 ^b	5,65 ± 0,09 ^a	5,36 ± 0,14 ^b
9	9,30 ± 0,13 ^a	9,02 ± 0,03 ^b	7,34 ± 0,12 ^a	7,19 ± 0,15 ^b	5,41 ± 0,12 ^a	5,17 ± 0,03 ^b
12	9,28 ± 0,11 ^a	9,06 ± 0,14 ^b	7,39 ± 0,19 ^a	7,18 ± 0,13 ^b	5,37 ± 0,04 ^a	5,22 ± 0,07 ^b
15	9,23 ± 0,13 ^a	9,05 ± 0,11 ^b	7,32 ± 0,11 ^a	7,15 ± 0,13 ^b	5,31 ± 0,08 ^a	5,15 ± 0,03 ^b
18	9,27 ± 0,08 ^a	8,99 ± 0,15 ^b	7,30 ± 0,06 ^a	7,09 ± 0,16 ^b	5,33 ± 0,14 ^a	5,13 ± 0,08 ^b

[☆] *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* La-5 és *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12

* Az adatok 9 mérés (3 párhuzamos × 3 ismétlés) átlag ± szórás-értékét jelölik

^{a,b} Az ugyanannál a baktériumnál, azonos sorban szereplő eltérő kisbetűk szignifikáns különbséget jeleznek ($P < 0,05$)

4.36. táblázat: Kultúraalkotó mikroorganizmusok[☆] életképességének alakulása *Spirulinával* (*Arthrospira platensis*) kiegészített és natúr (kontroll) ABT-típusú savanyú tejtermékek 15°C-os tárolása során

Tárolási idő (nap)	<i>Strep. thermophilus</i>		<i>Lb. acidophilus</i>		<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	
			életképessége (%)*			
	spirulinás	natúr	spirulinás	natúr	spirulinás	natúr
ABT-típusú savanyú tejtermékben						
0	100	100	100	100	100	100
3	190,6	169,8	128,8	144,5	38,9	28,2
6	151,4	131,8	93,3	123,0	19,5	14,8
9	134,9	97,7	91,2	120,2	11,2	9,6
12	128,8	107,2	102,3	117,5	10,2	10,7
15	114,8	104,7	87,1	109,7	8,9	9,1
18	125,9	91,2	83,2	95,5	9,3	8,7

[☆] *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* La-5 és *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12

* A túlélési százalékok a **4.35. táblázat**ban feltüntetett élősejt-szám (log₁₀ cfu/ml) adatokból számított átlagértékek

Az ABT-4 kultúra specifikációjában közölteknek megfelelően (Chr. Hansen A/S, 1995), a *Strep. thermophilus* élősejt-száma 10⁹ cfu/ml feletti értéket ért el a termégyártás végére, ill. a tárolási idő kezdetére. Az *A. platensis* biomasszát tartalmazó mintákban már a kiindulási időpontban is nagyobb ($P < 0,05$) élősejt-szám értéket mértünk, mint a natúr termékben, ami a cianobaktérium biomassza kokkus alakú starterkomponensekre gyakorolt serkentő hatását bizonyítja (Varga és mtsai, 1999). A *Strep. thermophilus*-szám a második vizsgálati időpontban (3. nap) némi növekedést mutatott mind a kontroll, mind a Spirulina-tartalmú mintákban. Ezt követően lassú, nem számottevő élősejt-szám csökkenés következett be, aminek eredményeként a *Strep. thermophilus* a 15°C-os tárolás 18. napján milliliterenként még mindig milliárdos nagyságrendben volt jelen. A sztreptokokkusok spirulinás mintákban tapasztalt kezdeti számbeli fölénye a tárolás végéig tovább növekedett, és ez a különbség az utolsó vizsgálati időpontban már mintegy 0,3 nagyságrendet tett ki.

A *Lb. acidophilus* 15°C-os tárolás alatti élősejt-szám változásának tendenciája nagymértékű hasonlóságot mutatott a *Strep. thermophilus*-éhoz, a laktobacillusok kiindulási sejtszáma azonban közel két nagyságrenddel kisebb volt, mint a sztreptokokkusoké. A kezdeti növekedést ismét lassú, egyenletes csökkenés követte és a spirulinás minták élősejt-szám fölénye ez esetben is megmutatkozott. A *Lb. acidophilus* La-5 koncentrációja a tárolás során mindvégig, önmagában véve is

meghaladta a kedvező táplálkozás-élettani hatások kifejtéséhez minimálisan szükségesnek tartott 10^6 cfu/g értéket (Sanders és Huis in't Veld, 1999; Shah, 2000; Kailasapathy és Champagne, 2011; Kechagia és mtsai, 2013), sőt a Magyar Élelmiszerkönyv Bizottság (2004) által savanyú tejtermékek tejsavbaktérium élősejt-számára vonatkozóan előírt 10^7 cfu/g minimumszintet is.

Korábbi megállapításokkal (Chr. Hansen A/S, 1995; Medina és Jordano, 1995) összhangban, a *B. animalis* subsp. *lactis* Bb-12 kezdeti élősejt-száma $1,0 \times 10^6$ cfu/ml és $5,0 \times 10^6$ cfu/ml között alakult. A savas kémhatású (4,04-4,33 pH-értékű) közeg pusztítóbb hatást gyakorolt a tárolás során a bifidobaktériumokra, mint a tejsavbaktériumokra. Az első 9 nap alatt a bifidobaktériumok 90%-a elpusztult, a második 9 nap során viszont már nem tapasztaltunk további érdemleges sejtszám-csökkenést. Az *A. platensis* biotassza jelenléte a tárolási idő végén 0,2 nagyságrenddel nagyobb ($P < 0,05$) *B. animalis* subsp. *lactis* Bb-12 élősejt-számot biztosított a kontroll termékhez képest. Ez utóbbi megfigyelés azért bír jelentőséggel, mert a bifidobaktériumok életképessége savanyú tejtermékekben nem minden esetben megfelelő. Lankaputhra és mtsai (1996) *Bifidobacterium* spp. túlélését vizsgálták 3,7-4,3 pH-értékű, 100 µg/ml hidrogén-peroxidot tartalmazó, 4°C-on tárolt tápközegekben, és azt tapasztalták, hogy miközben a törzsek több mint fele 6 nap után kipusztult a 4,3-es pH-jú közegből, három törzs 6 héten keresztül is jól tolerálta a savas kémhatást. A kellően nagy ($> 10^8$ cfu/g) kezdeti élősejt-szám fokozott védelmet biztosított a bifidobaktériumoknak a savak és a hidrogén-peroxid káros hatásaival szemben.

Spirulinát tartalmazó és natúr savanyú tejtermékeink – csekély oxigéntartalmuk, savas kémhatásuk és mikrobagátló anyagok termelésére képes hasznos baktériumaik miatt (Northolt, 1983; Sah és mtsai, 2016) – újfent kifogástalan higiéniai minőségűek voltak, hiszen egyetlen megvizsgált mintában sem találtunk kimutatható mennyiségű életképes penészgombát, élesztőgombát ($< 1,0 \times 10^0$ cfu/ml), *E. coli*-t, vagy kóliform baktériumot ($< 3,0 \times 10^{-1}$ MPN/ml); így viszont nem mutatkozhatott meg a cianobaktérium biotassza esetleges gombagátló hatása ABT-típusú savanyú tejtermékben úgy, mint ahogy azt korábban joghurt esetében tapasztaltuk (Varga és Szigeti, 1998).

4.9.2. Terméktárolás 4°C-on

A **4.37. és 4.38. táblázat** mutatja a kultúra eredetű baktériumok élősejt-számának, ill. túlélési arányának 4°C-os terméktárolás során észlelt alakulását.

4.37. táblázat: Kultúraalkotó mikroorganizmusok[☆] élősejt-számának alakulása Spirulinával (*Arthrospira platensis*) kiegészített és natúr (kontroll) ABT-típusú savanyú tejtermékek 4°C-os tárolása során

Tárolási idő (nap)	<i>Strep. thermophilus</i>		<i>Lb. acidophilus</i>		<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	
			élősejt-száma (log ₁₀ cfu/ml)*			
	spirulinás	natúr	spirulinás	natúr	spirulinás	natúr
ABT-típusú savanyú tejtermékben						
0	9,17 ± 0,10 ^a	9,03 ± 0,06 ^b	7,38 ± 0,07 ^a	7,11 ± 0,08 ^b	6,36 ± 0,08 ^a	6,19 ± 0,09 ^b
7	9,28 ± 0,06 ^a	9,12 ± 0,16 ^b	7,48 ± 0,08 ^a	7,25 ± 0,11 ^b	6,42 ± 0,06 ^a	6,30 ± 0,06 ^b
14	9,21 ± 0,12 ^a	9,13 ± 0,08 ^a	7,42 ± 0,10 ^a	7,28 ± 0,11 ^b	6,34 ± 0,03 ^a	6,17 ± 0,08 ^b
21	9,21 ± 0,12 ^a	9,11 ± 0,03 ^b	7,40 ± 0,11 ^a	7,25 ± 0,13 ^b	5,88 ± 0,05 ^a	5,82 ± 0,06 ^b
28	9,11 ± 0,07 ^a	9,01 ± 0,06 ^b	7,38 ± 0,15 ^a	7,20 ± 0,09 ^b	5,91 ± 0,09 ^a	5,73 ± 0,10 ^b
35	9,05 ± 0,18 ^a	8,85 ± 0,14 ^b	7,35 ± 0,07 ^a	7,01 ± 0,14 ^b	5,23 ± 0,09 ^a	5,07 ± 0,03 ^b
42	8,86 ± 0,16 ^a	8,64 ± 0,18 ^b	7,31 ± 0,13 ^a	7,00 ± 0,17 ^b	4,86 ± 0,05 ^a	4,69 ± 0,08 ^b

[☆] *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* La-5 és *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12

* Az adatok 9 mérés (3 párhuzamos × 3 ismételés) átlag ± szórás-értékét jelölik

^{a,b} Az ugyanannál a baktériumnál, azonos sorban szereplő eltérő kisbetűk szignifikáns különbséget jeleznek ($P < 0,05$)

4.38. táblázat: Kultúraalkotó mikroorganizmusok[☆] életképességének alakulása Spirulinával (*Arthrospira platensis*) kiegészített és natúr (kontroll) ABT-típusú savanyú tejtermékek 4°C-os tárolása során

Tárolási idő (nap)	<i>Strep. thermophilus</i>		<i>Lb. acidophilus</i>		<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	
			életképessége (%)*			
	spirulinás	natúr	spirulinás	natúr	spirulinás	natúr
ABT-típusú savanyú tejtermékben						
0	100	100	100	100	100	100
7	128,8	123,0	125,9	138,0	114,8	128,8
14	109,7	125,9	109,7	147,9	95,5	95,5
21	109,7	120,2	104,7	138,0	33,1	42,7
28	87,1	95,5	100,0	123,0	35,5	34,7
35	75,9	66,1	93,3	79,4	7,4	7,6
42	50,0	40,7	85,1	77,6	3,2	3,2

[☆] *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* La-5 és *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12

* A túlélési százalékok a **4.37. táblázat**ban feltüntetett élősejt-szám (log₁₀ cfu/ml) adatokból számított átlagértékek

A hűtve tárolás első 4 hetében gyakorlatilag nem csökkent a *Strep. thermophilus* élősejt-száma a savanyú tejtermékekben, azt követően viszont megkezdődött a sztreptokokkuszok pusztulása ($P < 0,05$), és ez a kedvezőtlen hatás a natúr terméket érintette nagyobb mértékben. A 4°C-os tárolás 6. hetének végén a Spirulinával kiegészített mintákban térfogat-egységenként 0,2 nagyságrenddel több ($P < 0,05$) *Strep. thermophilus* volt életben, mint a kontrollokban, jöllehet a natúr termékben is 10⁸ cfu/ml feletti élősejt-szám átlagértéket mértünk. Medina és Jordano (1995) szintén arról számolt be, hogy 7°C-on végzett 24 napos tárolást követően mindössze 11,4-16,8%-kal csökkent a *Strep. thermophilus* életképessége egy, az általunk készítetthez hasonló (ABT-típusú) savanyú tejtermékben. Akalin és mtsai (2009) ellenben azt közölték, hogy 0,3% Spirulina biomassza adagolása csökkent ($P < 0,05$) a *Strep. thermophilus* életképességét 28 napig hűtve tárolt hagyományos, ill. *B. animalis* subsp. *lactis* Bb-12 törzset tartalmazó probiotikus joghurtokban.

Robinson (1987) *Lb. acidophilus* hűtve tárolás alatti túlélését vizsgálta savanyú tejtermékekben, és a kezdeti koncentrációhoz (9,5 × 10⁶ cfu/ml) képest 7 nap után 20%-kal, 14 nap elteltével pedig közel 60%-kal kisebb élősejt-szám átlagértéket regisztrált. Ezzel szemben mi azt tapasztaltuk, hogy – a *Strep. thermophilus*-szal kapcsolatos megfigyeléseinkhez hasonlóan – nem csökkent a *Lb. acidophilus* La-5 életképessége a 4°C-os tárolás első 4 hetében. A 28. és a 42. nap között aztán már 0,2 nagyságrenddel visszaesett a natúr termékből kimutatható életképes

laktobacillusz sejtek mennyisége, és a pusztulás mértéke jóval nagyobb volt, mint a spirulinás savanyú tejtermékben. Mindent egybevetve, az *A. platensis* biomasza termékbeli jelenléte pozitívan hatott ($P < 0,05$) a *Lb. acidophilus* La-5 élősejt-számára, amely a 6 hetes hűtve tárolás során mindvégig elérte, ill. meghaladta a 10^7 cfu/ml-es szintet. Mocanu és mtsai (2013) szintén arra a megállapításra jutottak fermentált acidofilus tejek 15 napos, 5°C -os tárolásának eredményeképpen, hogy 0,5-1% Spirulina kiegészítés hozzájárul a *Lb. acidophilus* La-5 életképességének megőrzéséhez.

Reuter (1989) álláspontja szerint hűtött, oxigénmentes és mérsékelt savas körülmények között a bifidobaktériumok akár 4 héten keresztül megtarthatják életképességüket. Mi is úgy találtuk, hogy a *B. animalis* subsp. *lactis* Bb-12 sejteknek kevesebb mint 5%-a pusztult el savanyú tejtermékeink 4°C -os tárolásának első 2 hetében. Az ezt követő 4 hétben viszont jóval nagyobb mértékű, mintegy 1,5 nagyságrendnyi bifidobaktérium élősejt-szám csökkenés következett be, függetlenül a cianobaktérium biomasza jelenlététől; de minthogy a Spirulina a termékgyártás során serkentette a *B. animalis* subsp. *lactis* Bb-12 szaporodását ($P < 0,05$), az *A. platensis*-szel dúsított savanyú tejtermékben mindvégig több ($P < 0,05$) élő bifidobaktérium volt jelen, mint a natúr termékben. A Reuter (1989) által említett kis tárolási hőmérséklet jelentősége a mi kísérleteinkben is megmutatkozott, mert a 4°C -on tartott minták még 28 naposan is tartalmaztak annyi élet- és szaporodóképes bifidobaktériumot, mint a 15°C -on tároltak 3 napos korban (**4.35. és 4.37. táblázat**). Beheshtipour és mtsainak (2012) tapasztalatai a miénkhez hasonlóan kedvezőek voltak, ugyanis 0,25-1,0% *A. platensis* biomasszával kiegészített acidofilus-bifidus joghurtok 28 napos, 5°C -os tárolása során a *Lb. acidophilus* La-5 és a *B. animalis* subsp. *lactis* Bb-12 pusztulási ütemének csökkenését ($P < 0,05$) észlelték.

Mintáinkban ezúttal sem fordultak elő penészgombák, élesztőgombák ($< 1,0 \times 10^0$ cfu/ml), *E. coli* és kóliformok ($< 3,0 \times 10^{-1}$ MPN/ml), ezért az *A. platensis* biomasza potenciális mikrobaellenes tulajdonságai (Falch és mtsai, 1995; Varga és Szigeti, 1998; Ozdemir és Dalay, 2008; Nuhu, 2013) nem nyilvánulhattak meg.

4.10. Spirulinás aludttej kifejlesztése és a Spirulina biomasza hatása a mezofil starterbaktériumokra a savanyú tejtermék hűtve tárolása során

4.10.1. A Spirulina biomasza mikrobiológiai állapota

A mikrobiológiai vizsgálatok eredményei a Spirulina biomasza jó, de nem kifogástalan higiéniai minőségéről tanúskodtak (**4.39. táblázat**).

4.39. táblázat: A felhasznált *Arthrospira platensis* biomasza* mikrobiológiai minősége

Mikrobacsoport	Eredmény
Aerob mezofil mikroorganizmus-szám (cfu/g)	$1,9 \times 10^4$
Élesztőgomba-szám (cfu/g)	$< 1,0 \times 10^1$
Penészgomba-szám (cfu/g)	$2,1 \times 10^1$
<i>Enterobacteriaceae</i> -szám (cfu/g)	$< 1,0 \times 10^1$
<i>Escherichia coli</i> -szám (MPN/g)	$< 3,0 \times 10^0$
Koaguláz-pozitív sztafilokokkuszok száma (cfu/g)	$< 1,0 \times 10^1$
<i>Salmonella</i> spp. (25 g-ban)	Negatív

* n = 7

Ugyan egyetlen megvizsgált minta sem tartalmazott az *Enterobacteriaceae* családba sorolt baktériumot, élesztőgombát, vagy koaguláz-pozitív *Staphylococcus*-t, az aerob mezofil mikrobaszám viszont két esetben is megközelítette az Európai Gyógyszerkönyv ajánlása szerinti 10^5 cfu/g határértéket (Kneifel és mtsai, 2002). A megvizsgált *Spirulina* minták penészgomba-száma alacsony volt. A biotermék esetén a nagy összecsíraszám a nyitott rendszerű, szabadtéri medencés tenyésztésből adódhatott (Belay, 2008). Az *A. platensis* biotermék élelmiszer-adalékanyagként történő felhasználása során ügyelni kell a por megfelelő mikrobiológiai állapotára, még akkor is, ha kis koncentrációban történik az alkalmazása és a tejsavbaktériumok kezdeti nagy élősejt-száma, ill. tejsavtermelése gátló hatást gyakorol a szennyező mikroorganizmusok többségére.

4.10.2. A mezofil tejsavbaktériumok savtermelésének és sejtszám-változásának nyomon követése modell tejtápközegben

3 g/l *Spirulina* biotermék-kiegészítést alkalmazva 2-2 db *Lc. lactis* subsp. *lactis*- és *Lc. lactis* subsp. *cremoris*-, 4 db *Lc. lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis*-, továbbá 1-1 db *Ln. mesenteroides* subsp. *cremoris*-, valamint *Ln. mesenteroides* subsp. *dextranicum*-törzs fermentációjának nyomon követésére került sor. Eredményeinket a **4.40. táblázat** szemlélteti.

4.40. táblázat: *Spirulina* biotermék (3 g/l) hatása mezofil tejsavbaktérium törzsek savtermelésére tejben

Törzs [✱]	Kontrollhoz viszonyított átlagos pH-különbség a fermentáció során							
	0. óra	2. óra	4. óra	6. óra	8. óra	10. óra	12. óra	14. óra
B.2125	-0,07	-0,07	-0,17	-0,16	-0,10	-0,02	0,00	0,00
B.2128	-0,05	-0,04	+0,03	+0,25*	+0,38*	+0,22*	+0,16*	+0,14*
B.2122	-0,05	-0,04	+0,02	+0,10	+0,26	+0,43	+0,50	+0,51
B.2123	-0,06	-0,06	-0,06	+0,01	+0,08*	+0,03	+0,03	+0,01
B.2126	-0,06	-0,07	-0,10*	-0,14	+0,01	+0,03	+0,03	+0,03*
B.2127	-0,04*	-0,03*	-0,02*	+0,22*	+0,54*	+0,61*	+0,51*	+0,58*
B.2124	-0,06*	-0,03	+0,04*	+0,14*	+0,30*	+0,19*	+0,18*	+0,14*
ATCC 19257	-0,05*	+0,03*	+0,12*	+0,56*	+0,59*	+0,14*	+0,04*	+0,06*
B.2120	-0,07	-0,04	0,00	+0,12*	+0,53*	+0,86*	+0,92*	+0,90*
B.1658	-0,05*	-0,05*	-0,07*	-0,03	+0,09	+0,10*	+0,09*	+0,10*

[✱] A fajok megnevezése a **3.12. táblázat**ban található

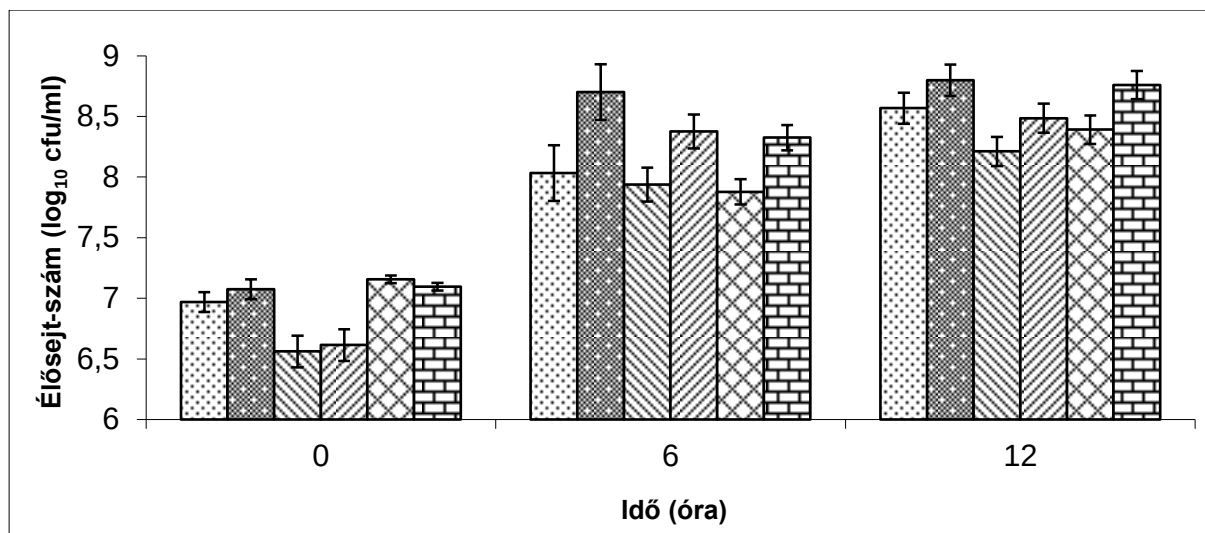
–: A *Spirulina*-t tartalmazó minta pH-értéke nagyobb, mint a kontrollé

+: A *Spirulina*-t tartalmazó minta pH-értéke kisebb, mint a kontrollé

* Kontrollhoz viszonyított szignifikáns ($P < 0,05$) pH-különbség ($n = 6$)

Az *A. platensis* biotermékkel dúsított minták kezdeti pH-értékének átlaga nagyobb volt, mint a kontrolloké, mert a *Spirulina* lúgos karakterű anyag [3 g/l *Spirulina* biotermék vizes oldatának pH-ja 9,9 (Varga, 1999)], amely érdemleges pufferkapacitással is rendelkezik. A 3 g/l mennyiségben alkalmazott *Spirulina* biotermék növelte ($P < 0,05$) a *Lc. lactis* subsp. *lactis* NCAIM B.2128, a *Lc. lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis* NCAIM B.2127, a *Lc. lactis* subsp. *cremoris* ATCC 19257, a *Lc. lactis* subsp. *cremoris* NCAIM B.2124 és a *Ln. mesenteroides* subsp. *cremoris* NCAIM B.2120 savtermelő aktivitását a fermentációs folyamat során.

A **4.9. ábrán** látható a *Lc. lactis* subsp. *lactis* NCAIM B.2128, a *Lc. lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis* NCAIM B.2127 és a *Lc. lactis* subsp. *cremoris* ATCC 19257 sejtszámainak alakulása a kontroll minták, ill. a 0,3% *Spirulina*-kiegészítést tartalmazó kezelések esetében.



4.9. ábra: *Lactococcus lactis subsp. lactis* NCAIM B.2128, *Lc. lactis subsp. lactis* var. diacetylactis NCAIM B.2127 és *Lc. lactis subsp. cremoris* ATCC 19257

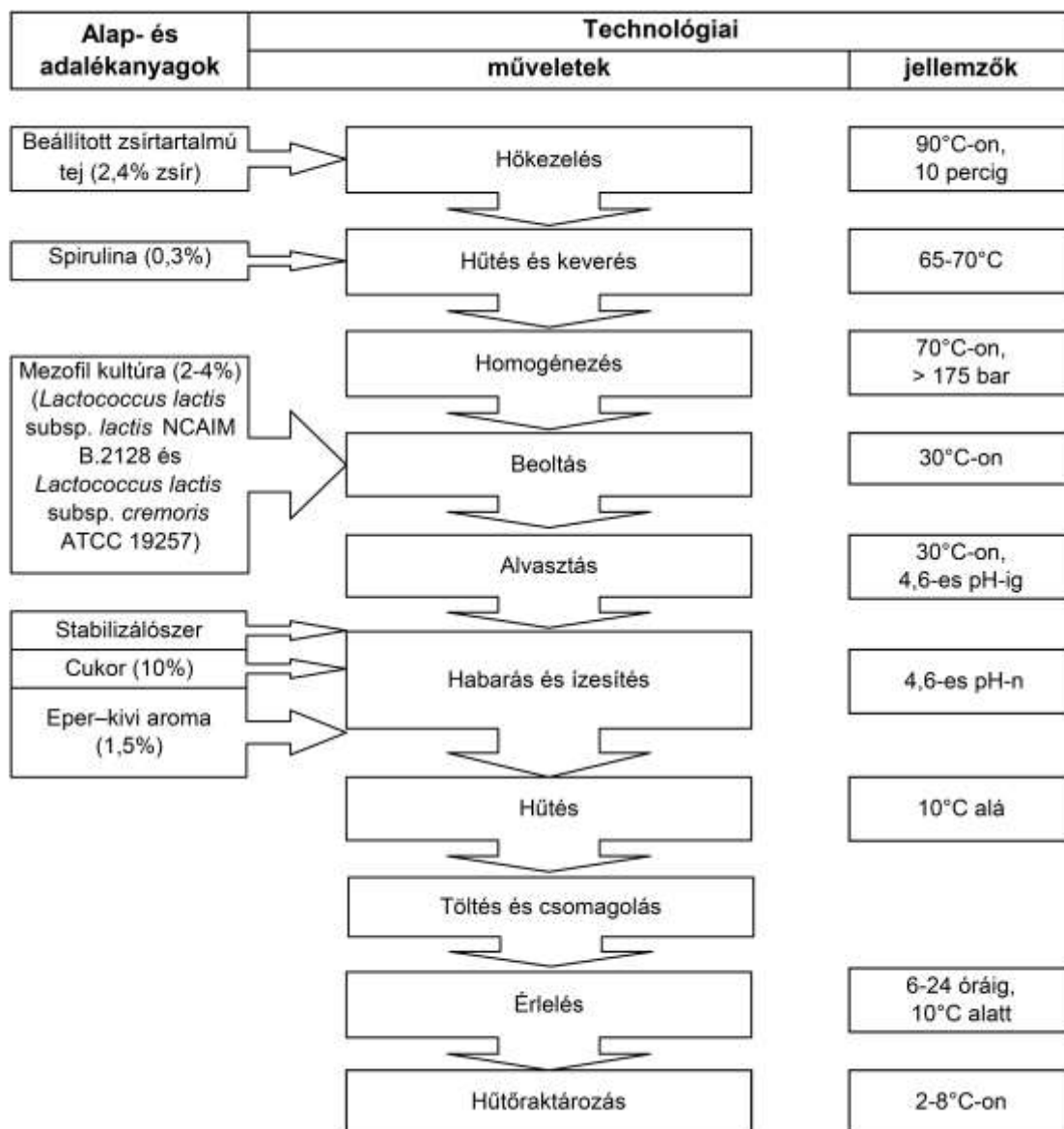
sejtszámainak alakulása és az átlagértékek 95%-os konfidencia-intervalluma ($n = 6$)

[1. oszlopok: NCAIM B.2128 kontroll, 2. oszlopok: NCAIM B.2128 spirulinás, 3. oszlopok: NCAIM B.2127 kontroll, 4. oszlopok: NCAIM B.2127 spirulinás, 5. oszlopok: ATCC 19257 kontroll, 6. oszlopok: ATCC 19257 spirulinás]

Az eredmények összhangban vannak a savtermelő aktivitás vizsgálatánál tapasztaltakkal, ugyanis a *Spirulina*-adagolás mindhárom törzs esetében sejtszám-növekedést ($P < 0,05$) idézett elő a fermentáció 6. órájára; sőt a B.2127 és az ATCC 19257 törzs esetében a 12. órában is különböztek ($P < 0,05$) az élősejt-számok. Ezzel egybehangzóan argentin szerzők is megállapították, hogy az *A. platensis* metanolos és vizes kivonatai, extracelluláris termékei, ill. szárított biomasszája egyaránt serkentik a *Lc. lactis subsp. lactis* C2 szaporodását, mind laboratóriumi tápközegekben, mind pedig tejben történő alkalmazás során (De Mulé és mtsai, 1996; Parada és mtsai, 1998; De Caire és mtsai, 2000).

4.10.3. Mezofil tejsavbaktériumok és *Spirulina* biomassza felhasználásával készülő ízesített savanyú tejtermék kifejlesztése

Az előzőekben ismertetett savtermelési és szaporodási vizsgálatok eredményei alapján kiválasztott két tejsavbaktérium-törzs (*Lc. lactis subsp. lactis* NCAIM B.2128 és *Lc. lactis subsp. cremoris* ATCC 19257) kevert tenyészetével készülő, 0,3% *A. platensis* biomasszát és 10% hozzáadott cukrot tartalmazó, epres–kivis ízesítésű savanyú tejtermék gyártástechnológiai folyamata a **4.10. ábrán** látható.



4.10. ábra: Spirulinás ízesített aludttej gyártástechnológiai folyamatábrája

4.10.4. Spirulina biomassza hatása a mezofil tejsavbaktériumokra a kifejlesztett savanyú tejtermék hűtve tárolása során

A 4°C-on tárolt ízesített aludttejek *Lactococcus*-számának alakulását a **4.41. táblázat** szemlélteti.

4.41. táblázat: Laktokokkuszek élősejt-számának* alakulása kontroll, illetve Spirulina biomasszával kiegészített ízesített aludttejek 4°C-os tárolása során

Tárolási idő (nap)	Kontroll		Spirulinás	
	Log ₁₀ cfu/ml	%	Log ₁₀ cfu/ml	%
0	8,53 ± 0,05 ^a	100,00	8,65 ± 0,07 ^b	100,00
7	8,66 ± 0,17 ^a	133,78	8,92 ± 0,18 ^b	186,00
14	8,49 ± 0,17 ^a	91,21	8,79 ± 0,23 ^b	137,03
21	8,47 ± 0,05 ^a	86,78	8,65 ± 0,16 ^a	100,92
28	8,39 ± 0,10 ^a	71,83	8,26 ± 0,17 ^a	40,72
35	7,57 ± 0,11 ^a	11,05	7,57 ± 0,12 ^a	8,34
42	7,44 ± 0,07 ^a	8,06	7,43 ± 0,05 ^a	6,09

* Az adatok 6 mérés (3 párhuzamos × 2 ismétlés) átlag ± szórást jelentenek

^{a,b} Az azonos sorban szereplő eltérő kisbetűk szignifikáns különbséget jeleznek ($P < 0,05$)

A Spirulinával kiegészített ízesített aludttej *Lactococcus*-száma a tárolás első 2 hetében nagyobb volt ($P < 0,05$), mint a kontroll terméké, igazolva az *A. platensis* biotranszformáció kókuszos-szerű tejsavbaktériumokra gyakorolt serkentő hatását (Varga és mtsai, 1999). Mind a kontroll, mind a Spirulinát tartalmazó termékben élősejt-szám növekedés volt tapasztalható a tárolás első hetében, azt követően azonban csökkenő tendencia érvényesült. A 6. hét végén nem különbözött ($P > 0,05$) a kontroll és a cianobaktériumos termék *Lactococcus*-száma (**4.41. táblázat**). Termofil tejsavbaktériumok termékbeli túlélését vizsgálva, Medina és Jordano (1995), Akalin és mtsai (2007), valamint Guldás és Irkin (2010) szintén sejtszám-növekedést tapasztaltak a tárolás kezdeti szakaszában, a gyártás végén mért sejtszámokhoz képest. A starterbaktériumok élősejt-száma a maximális érték elérése után folyamatosan csökkent a termékek hűtve tárolása során. Ahogy arról az előzőekben már szó esett, a magyar élelmiszer-szabályozás vonatkozó rendelkezése értelmében, az előflórás savanyú tejtermékekben a kultúrából származó tejsavbaktériumoknak legalább 10^7 cfu/g mennyiségben kell jelen lenniük a minőség-megőrzési idő végéig (Magyar Élelmiszerkönyv Bizottság, 2004). Termékeink a 42 napos tárolási kísérlet során mindvégig megfeleltek ennek az előírásnak.

A **4.42. táblázat** a kontroll, ill. az *A. platensis* biotranszformációt tartalmazó aludttej minták kémhatásának tárolás alatti alakulását szemlélteti.

4.42. táblázat: A pH-érték alakulása kontroll, illetve Spirulina biotranszformációval kiegészített ízesített aludttejek 4°C-os tárolása során

Tárolási idő (nap)	pH-érték*	
	Kontroll	Spirulinás
0	4,41 ± 0,05 ^a	4,31 ± 0,02 ^b
7	4,30 ± 0,05 ^a	4,18 ± 0,04 ^b
14	4,26 ± 0,05 ^a	4,15 ± 0,04 ^b
21	4,24 ± 0,04 ^a	4,14 ± 0,04 ^b
28	4,21 ± 0,03 ^a	4,12 ± 0,04 ^b
35	4,20 ± 0,01 ^a	4,11 ± 0,02 ^b
42	4,18 ± 0,02 ^a	4,10 ± 0,02 ^b

* Az adatok 6 mérés (3 párhuzamos × 2 ismétlés) átlag ± szórás-értékét jelölik

^{a,b} Az azonos sorban szereplő eltérő kisbetűk szignifikáns különbséget jeleznek ($P < 0,05$)

Az *A. platensis* biotranszformációval készült aludttej és a kontroll termék kezdeti kémhatása közötti különbség ($P < 0,05$) a Spirulina által a tejsavbaktériumok savtermelésére gyakorolt serkentő hatásnak volt betudható. A kontroll termék esetében 0,11 egységnyi, a Spirulina-tartalmú aludttejénél pedig 0,13 egységnyi pH-csökkenés következett be a tárolás első hetének végére. A későbbiekben fokozatosan csökkentek a pH-értékek, azonban az *A. platensis* biotranszformációval kiegészített termék és a kontroll aludttej kémhatása közötti különbség ($P < 0,05$) a tárolás végéig megmaradt.

5. KÖVETKEZTETÉSEK

5.1. Nyers tejek higiénája, bakteriológiája

A közvetlenül értékesített termelői nyers tehéntej esetében elsősorban a tejnyeréskor és tejkezeléskor elkövetett higiéniai mulasztások tehetők felelőssé az aerob mezofil mikrobák és a kóliform baktériumok kiugróan nagy élősejt-számaiért. Nagymértékű posztszekréciós kontaminációra utalnak a minták mintegy ötödénél tapasztalt fizikai szennyeződések is. Szomatikus sejtszám vonatkozásában ugyan valamivel kedvezőbb a kép, de az 500.000 sejt/ml szintet meghaladó egyedi vizsgálati eredmények és átlagértékek egyes eladóknál a tejtermelő tehenállomány kifogásolható tőgyegészségügyi helyzetére hívják fel a figyelmet. A gátlóanyag-pozitivitás is gyakoribb a közvetlenül értékesített nyers tehéntej tételekben, mint a felvásárolt tejekben. Mindent egybevetve, a közvetlen értékesítési csatornák jelentős hatást gyakorolnak a nyers tehéntej mikrobiológiai minőségére. A közvetlenül értékesített tej minősége az összes jellemző tekintetében elmarad a felvásárolt tejétől. Eredményeink rávilágítanak a szigorúbb, pontosabb ágazati jogalkotás, továbbá a szervezett és rendszeres minőségellenőrzés szükségességére, amely az egyes termelői csoportok helyett az értékesítési formát helyezi előtérbe.

Higiéniai–mikrobiológiai szempontból a nyers kecsketej minták sem voltak kifogástalanok, mert szinte kivétel nélkül tartalmaztak kóliform baktériumokat, *E. coli*t és koaguláz-pozitív *Staphylococcus*-okat. A feldolgozónak történő átadás előtti tejtételek összcsíraszama határérték körül mozgott (átlagban felette volt) és szomatikus sejtszámukat is relatíve nagynak találtuk, jóllehet ez utóbbi paraméterre vonatkozóan a hatályos rendelet nem tartalmaz előírást. Mindezek a megfigyelések rávilágítanak a tartástechnológia és a fejéshigiénia hiányosságaira, de még inkább a tejjel érintkező felületek (csővezetékek, tartályok) tisztításának és fertőtlenítésének nem kellő hatékonyságára, valamint a nyers tej tárolása során jelentőséggel bíró paraméterek (hőmérséklet, időtartam) szigorításának fontosságára.

A tejelő tehenek tőgygyulladásáért az esetek jelentős hányadában felelőssé tehető *Staph. aureus* széleskörűen előfordul a hazai nyers tehéntejekben. Az általunk megvizsgált elegytej minták többsége (55%-a) tartalmazott *Staph. aureus*-t. Komoly probléma az antibiotikum-rezisztens baktériumok tej és tejtermékek útján történő terjedése. *Staphylococcus aureus* izolátumainknak csak kevesebb mint 70%-a volt érzékeny a penicillinre, és a vizsgált gazdaságokban legelterjedtebb enterotoxin-gént (seb) hordozó összes törzs penicillin-rezisztensek bizonyult. Eredményeink összességében mégis arról tanúskodnak, hogy a magyar nyers tehéntejekben előforduló *Staph. aureus* törzsek enterotoxin-termelő potenciálja nem jelentős, mert a vizsgálatainkba bevont tejtermelő gazdaságok háromnegyedének elegytejéből és masztitiszes tőgynegyed-tej mintáiból sem tudtunk SE-gént hordozó sztafilokokkuszokat kimutatni. Mindazonáltal, a toxintermelésre képes *Staph. aureus* törzsek nyers tejben és nyers tejből készült élelmiszerekben való előfordulása veszélyeztetheti az e termékeket fogyasztók egészségét.

A Mini-VIDAS ECO rendszert tökéletesen alkalmasnak találtuk *E. coli* O157:H7 nyers tejből történő pontos és hatékony kimutatására. Vizsgálataink eredménye szerint a hazai nyers tehéntej tételek kevesebb mint 1%-ában (0,4%-ában) fordul elő enterohaemorrhagiás *E. coli* O157:H7.

5.2. Funkcionális savanyú tejtermékek bakteriológiája

A tehén-, a tevé-, a juh- és a kecsketej egyaránt alkalmas *Lb. acidophilus*-t, bifidobaktériumokat és *Strep. thermophilus*-t tartalmazó, ún. ABT-típusú savanyú tejek alapanyagául történő felhasználásra. A higiénikus körülmények között előállított és 6 héten keresztül hűtve tárolt termékek megfelelő számú (10^6 - 10^7 cfu/ml) probiotikus laktobacillusz és bifidobaktérium élősejttel jellemezhetők, a nem probiotikus tejsavbaktériumokból (*Strep. thermophilus*) pedig a Magyar Élelmiszerkönyv vonatkozó minimum-előírásait 1-2 nagyságrenddel meghaladó mennyiséget tartalmaznak.

Az akácméz 1,0-5,0%-os koncentrációban nem befolyásolja ($P > 0,05$) a *Strep. thermophilus* és a *Lb. bulgaricus* életképességét 6 héten keresztül 4°C-on tárolt joghurtban. Mindazonáltal javasolható a méz joghurtgyártáshoz történő felhasználása, mert táplálkozás-élettani jótéteményeket hordozó, természetes eredetű édesítőszerről van szó, amely 3%-os mennyiségben alkalmazva kellemessé teszi a végtermék érzékszervi tulajdonságait anélkül, hogy gátló hatást gyakorolna a termékazonos tejsavbaktériumokra.

Öt százalék akácméz-kiegészítés ugyanakkor nem egyszerűen csökkenti, hanem meg is akadályozza a *B. animalis* subsp. *lactis* Bb-12 pusztulását tevétejéből, ill. tehéntejből készített ABT-típusú savanyú tejekben a termékek öthetes hűtve tárolása során. Táplálkozás-élettani és mikrobiológiai előnyökkel is jár tehát a bifidobaktériumokat tartalmazó savanyú tejtermékek akácmézzel történő komplettálása.

A minimum 93% oligofruktóz-tartalmú Raftilose P95 termék 1,0-5,0%-os mennyiségben nem befolyásolja ($P > 0,05$) a *Strep. thermophilus* és a *Lb. acidophilus* La-5 életképességét 6 héten keresztül 4°C-on tárolt ABT-típusú savanyú tejtermékekben; 3,0-5,0%-os koncentrációban alkalmazva viszont lassítja ($P < 0,05$) a *B. animalis* subsp. *lactis* Bb-12 pusztulási ütemét, ezért alkalmas a bifidobaktériumok túlélési arányának növelésére hűtött körülmények között tárolt savanyú tejtermékekben. A 90% feletti inulintartalmú Raftiline GR termék *B. animalis* subsp. *lactis* Bb-12-re gyakorolt jótékony hatása 5,0%-os koncentráció alatt nem jelentkezik, és összességében jóval mérsékeltebb, mint a Raftilose P95-é.

A kereskedelmi forgalomban kapható *A. platensis* biomasszák mikrobiológiai minősége megfelel a nemzetközi ajánlásoknak, de aerob mezofil mikrobaszámuk csökkentésére a jelenleginél nagyobb hangsúlyt kell fektetni a feldolgozás és a csomagolás során. A Spirulina-kiegészítés kedvező hatást gyakorol a termofil kultúrakomponensek tárolás alatti túlélésére ABT-típusú savanyú tejtermékekben, továbbá serkenti a tejjparban használt mezofil tejsavbaktériumok savtermelését és szaporodását is, ezért perspektivikus lenne tejsavbaktériumok tenyésztésére szolgáló tápközegek összetevőjeként alkalmazni. Pozitív hatása nemcsak a fermentáció során, hanem a késztermék (aludttej) hűtve tárolásának kezdeti szakaszában is megmutatkozik. Mindezekon túl, az esszenciális aminosavakban, telítetlen zsírsavakban és vitaminokban gazdag Spirulina biomassza növeli a tehéntej táplálkozás-élettani értékét, ezért több szempontból is javasolható adalékanyagként történő felhasználása (3 g/l mennyiségben) termofil és mezofil savanyú tejtermékek előállításához.

6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

6.1. Nyers tejek higiéniája, bakteriológiája

1. A nyers tehéntej közvetlen értékesítésére vonatkozó jelenlegi törvényi szabályozás és hatósági ellenőrzési gyakorlat nem garantálja a mikrobiológiai élelmiszer-biztonság feltételeinek maradéktalan teljesülését és – ezzel összefüggésben – a hazai fogyasztók egészségének hatékony védelmét. Hiányzik a termelés és az árusítás helyszínén vett minták rendszeres vizsgálatára alapozott minőség-ellenőrzés rendszere, ezért a termelők nem megfelelő higiéniai színvonalú tejnyerési, tejkezelési és értékesítési gyakorlata azt eredményezi, hogy a közvetlenül értékesített nyers tehéntej minősége a "klasszikus" mikrobiológiai–higiéniai paraméterek (aerob mezofil mikroorganizmus-szám, szomatikus sejtszám, erjedésgátló tejidegen anyagok jelenléte) vonatkozásában jelentősen elmarad a felvásárolt nyers tehéntejekétől.
2. A megvizsgált magyar parlagi kecskeállomány tejének higiéniai–mikrobiológiai minősége javításra szorul, mert a hűtve tárolt elegytejet $1,0 \times 10^6$ sejt/ml feletti havi szomatikus sejtszám-átlagérték jellemezte a májustól novemberig terjedő laktációs időszakban. Emellett a nyers elegytej-minták több mint 70%-ában a maximálisan megengedett szintet ($1,5 \times 10^6$ cfu/ml) meghaladó mennyiségű aerob mezofil mikroorganizmus volt jelen és ugyanezek a minták milliliterenként jellemzően több ezer (tízezer) kóliform baktériumot, valamint több száz (ezer) koaguláz-pozitív *Staphylococcus*-t tartalmaztak. A tögyegészségügyi problémák orvoslása, a fejéshigiénia szabályainak betartása és a tejjel érintkező felületek hatékony tisztítása–fertőtlenítése mellett a nyers tej tárolási paramétereinek megfelelőségére kell a legnagyobb hangsúlyt fektetni. A hűtve (5°C-on) tárolt nyers kecsketej háromnaponkénti elszállítása nem megfelelő gyakorlat, mert ez idő alatt számottevően romlik a mikrobiológiai–higiéniai minőség.
3. A vizsgálatainkba bevont hazai tehéntejtermelő gazdaságok 70%-ának nyers elegytejéből – illetve az összes megvizsgált elegytej minta 55%-ából – kimutatható volt a *Staphylococcus aureus*, üzemmérettől nem függő élősejtszámban. Az elegytejeből és tögygyulladásos tögynegyed-tej mintákból izolált 59 db *Staph. aureus* törzs 30,5%-a penicillin-rezisztensek bizonyult. Multiplex PCR módszerrel megvizsgált *Staph. aureus* izolátumaink 27,1%-a hordozott legalább egy *Staph. aureus* enterotoxin (SE)-gént, ezek egy kivételtől eltekintve klasszikus SE-gének (sea–sed) voltak. A gazdaságok 75%-ának nyers elegytejéből és masztitiszes tögynegyed-tej mintáiból viszont nem tudtunk SE-gént hordozó sztafilokokkuszokat kimutatni. A pulzáló gélelektroforézises (PFGE) vizsgálatok alapján, 86%-os hasonlósági szinten, tizennégy főtypusba és nyolc altípusba sorolt *Staph. aureus* izolátumainkra jellemző volt az adott gazdaságon belüli genetikai diverzitás hiánya. A PFGE mintázatokból az is egyértelműen kiderült, hogy azokon a telepeken, ahol jelentős számban fordultak elő szubklinikai vagy akár klinikai tögygyulladásban szenvedő tehenek, a *Staph. aureus* átjutott a fertőzött tögyből az elegytejbe.

4. ELFA (Enzyme-Linked Fluorescent Assay) típusú, az *Escherichia coli* O157:H7 kimutatása szempontjából 100% érzékenységgű, 97,9% specifikusságú és 99,3% pontosságú immunológiai módszerrel végzett vizsgálataink eredménye szerint a magyarországi nyers tehéntej tételek 0,4%-ában van jelen az enterohaemorrhagiás *E. coli* O157:H7.

6.2. Funkcionális savanyú tejtermékek bakteriológiája

5. Elsőként vizsgáltuk meg probiotikus laktobacilluszok és bifidobaktériumok tárolás alatti együttes túlélését natúr, valamint mézzel kiegészített fermentált tevétejben. Megállapítottuk, hogy előállíthatók tevétejből a Magyar Élelmiszerkönyv vonatkozó előírásainak megfelelő mikrobiológiai minőségű, *Lactobacillus acidophilus*-t (A), bifidobaktériumokat (B) és *Streptococcus thermophilus*-t (T) tartalmazó, ún. ABT-típusú savanyú tejtermékek, amelyek 4°C-on tárolva legalább 42 napig kellő számú ($> 10^6$ cfu/ml) *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 és *Lb. acidophilus* La-5 élősejtet tartalmaznak. Bizonyítottuk továbbá, hogy 5% akácméz-kiegészítés megakadályozza a *B. animalis* subsp. *lactis* Bb-12 pusztulását ABT-típusú fermentált tevétejben a termék öthetes hűtve tárolása során.
6. Elsőként vizsgáltuk meg *Strep. thermophilus* és *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* életképességének hűtve tárolás alatti alakulását akácmézzel (*Robinia pseudo-acacia* L.) kiegészített joghurtban. Jóllehet az akácméz 1,0-5,0%-os koncentrációban nem befolyásolja ($P > 0,05$) a starterbaktériumok életképességét 6 héten keresztül 4°C-on tárolt joghurtban, mégis javasolható a méz joghurtgyártáshoz történő felhasználása, mert táplálkozás-élettani előnyöket hordozó, természetes eredetű édesítőszerről van szó, amely 3%-os mennyiségben alkalmazva javítja a késztermék érzékszervi tulajdonságait anélkül, hogy gátló hatást gyakorolna a termékazonos tejsavbaktériumokra.
7. A minimum 93% oligofruktóz-tartalmú Raftilose P95 termék 3,0-5,0%-os koncentrációban alkalmazva lassítja ($P < 0,05$) a *B. animalis* subsp. *lactis* Bb-12 pusztulási ütemét, ezért alkalmas a bifidobaktériumok túlélési arányának növelésére hűtött körülmények között (4°C-on) tárolt ABT-típusú savanyú tejtermékekben.
8. Az *Arthrospira platensis* cianobaktérium faj szárított biomasszájának (Spirulina) 3 g/l mennyiségben történő adagolása kedvezően befolyásolja az ABT-típusú savanyú tejtermékek kultúra eredetű termofil baktériumainak (*Strep. thermophilus*, *Lb. acidophilus* La-5, *B. animalis* subsp. *lactis* Bb-12) termékgyártás alatti szaporodását ($P < 0,05$) és 4-15°C-os tárolás alatti túlélését. Hasonlóképpen, a tej alapanyaghoz 3 g/l mennyiségben hozzáadott Spirulina biomassza serkenti ($P < 0,05$) egyes mezofil tejsavbaktérium-törzsek (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* NCAIM B.2128, *Lc. lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis* NCAIM B.2127, *Lc. lactis* subsp. *cremoris* ATCC 19257) savtermelő aktivitását és szaporodási sebességét a fermentációs folyamat során, továbbá növeli ($P < 0,05$) e startertörzsek életképességét 4°C-on tárolt aludttejben. A bioaktív komponensekben – pl. esszenciális aminosavakban, vitaminokban, fikocianinban és gamma-linolénsavban – gazdag Spirulina biomassza lehetőséget teremt termofil és mezofil funkcionális savanyú tejtermékek előállítására.

7. IRODALOMJEGYZÉK

1. Abu-Taraboush, H.M., Al-Dagal, M.M., Al-Royli, M.A. (1998): Growth, viability, and proteolytic activity of bifidobacteria in whole camel milk. *Journal of Dairy Science* **81** 354–361.
2. Agerbaek, M., Gerdes, L.U., Richelsen, B. (1995): Hypocholesterolaemic effect of a new fermented milk product in healthy middle-aged men. *European Journal of Clinical Nutrition* **49** 346–352.
3. Akalin, A.S., Göncü, S., Ünal, G., Fenderya, S. (2007): Effects of fructooligosaccharide and whey protein concentrate on the viability of starter culture in reduced-fat probiotic yogurt during storage. *Journal of Food Science* **72** M222–M227.
4. Akalin, A.S., Ünal, G., Dalay, M.C. (2009): Influence of *Spirulina platensis* biomass on microbiological viability in traditional and probiotic yogurts during refrigerated storage. *Italian Journal of Food Science* **21** 357–364.
5. Akineden, Ö., Annemüller, C., Hassan, A.A., Lämmle, C., Wolter, W., Zschöck, M. (2001): Toxin genes and other characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates from milk of cows with mastitis. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* **8** 959–964.
6. Al-Sheraji, S.H., Ismail, A., Manap, M.Y., Mustafa, S., Yusof, R.M. (2012): Viability and activity of bifidobacteria during refrigerated storage of yoghurt containing *Mangifera pajang* fibrous polysaccharides. *Journal of Food Science* **77** M624–M630.
7. Álvarez-Suárez, M.E., Otero, A., García-López, M.L., Santos, J.A. (2015): Microbiological examination of bulk tank goat's milk in the Castilla y León region in Northern Spain. *Journal of Food Protection* **78** 2227–2232.
8. Aman, I.M., Knappstein, K., Hahn G. (1998): Examination of verotoxin producing *Escherichia coli* in some Egyptian dairy products with special reference to serotype O157:H7. *Milchwissenschaft* **53** 676–679.
9. Amigo, L., Fontecha, J. (2011): Goat milk. In: Fuquay, J.W., Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. (Eds), *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Vol. 3, 2nd ed. Academic Press and Elsevier, Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo. pp. 484–493.
10. Angelidis, A.S., Tsiota, S., Pexara, A., Govaris, A. (2016): The microbiological quality of pasteurized milk sold by automatic vending machines. *Letters in Applied Microbiology* **62** 472–479.
11. Ansary, S.E., Kaspar, C.W. (1997): Survey of retail cheeses, dairy processing environments and raw milk for *Escherichia coli* O157:H7. *Letters in Applied Microbiology* **25** 131–134.
12. Antunes, A.E.C., Cazzetto, T.F., Bolini, H.M.A. (2005): Viability of probiotic micro-organisms during storage, postacidification and sensory analysis of fat-free yogurts with added whey protein concentrate. *International Journal of Dairy Technology* **58** 169–173.
13. Anupama, P.R. (2000): Value-added food: single cell protein. *Biotechnology Advances* **18** 459–479.

14. Ashraf, R., Shah, N.P. (2011): Selective and differential enumeration of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium* spp. in yoghurt – a review. *International Journal of Food Microbiology* **149** 194–208.
15. Asperger, H., Zangerl, P. (2003): *Staphylococcus aureus*. In: Roginski, H., Fuquay, J.W., Fox, P.F. (Eds), *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Vol. 4. Academic Press and Elsevier Science, Amsterdam, Boston, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo. pp. 2563–2569.
16. Asperger, H., Zangerl, P. (2011): *Staphylococcus aureus* – dairy. In: Fuquay, J.W., Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. (Eds), *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Vol. 4, 2nd ed. Academic Press and Elsevier, Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo. pp. 111–116.
17. Association Française de Normalisation (AFNOR) (2004): *Validation de la méthode VIDAS ECO pour la recherche d'Escherichia coli O157*. AFNOR BIO 12/08 – 07/00. AFNOR, La Plaine Saint-Denis, France.
18. Atrott, J., Henle, T. (2009): Methylglyoxal in manuka honey – correlation with antibacterial properties. *Czech Journal of Food Sciences* **27** S163–S165.
19. Ayehunie, S., Belay, A., Baba, T.W., Ruprecht, R.M. (1998): Inhibition of HIV-1 replication by an aqueous extract of *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*). *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology* **18** 7–12.
20. Balaban, N., Rasooly, A. (2000): Staphylococcal enterotoxins. *International Journal of Food Microbiology* **61** 1–10.
21. Balloni, W., Tomaselli, L., Giovannetti, L., Margheri, M.C. (1980): Biologia fondamentale del genere *Spirulina*. In: Cantarelli, C., Ciferri, O., Florenzano, G., Kapsiotis, G., Materassi, R., Treccani, U. (Eds), *Atti del Convegno: Prospettive della Coltura di Spirulina in Italia*. Consiglio Nazionale delle Ricerche, Roma, Italia. pp. 49–82.
22. Bania, J., Dabrowska, A., Bystron, J., Korzekwa, K., Chrzanowska, J., Molenda, J. (2006): Distribution of newly described enterotoxin-like genes in *Staphylococcus aureus* from food. *International Journal of Food Microbiology* **108** 36–41.
23. Barbano, D.M., Ma, Y., Santos, M.V. (2006): Influence of raw milk quality on fluid milk shelf life. *Journal of Dairy Science* **89** E15–E19.
24. Barrón, B.L., Torres-Valencia, J.M., Chamorro-Cevallos, G., Zúñiga-Estrada, A. (2008): *Spirulina* as an antiviral agent. In: Gershwin, M.E., Belay, A. (Eds), *Spirulina in Human Nutrition and Health*. CRC Press, Boca Raton, FL. pp. 227–242.
25. Beheshtipour, H., Mortazavian, A.M., Haratian, P., Khosravi-Darani, K. (2012): Effects of *Chlorella vulgaris* and *Arthrospira platensis* addition on viability of probiotic bacteria in yogurt and its biochemical properties. *European Food Research and Technology* **235** 719–728.
26. Beheshtipour, H., Mortazavian, A.M., Mohammadi, R., Sohrabvandi, S., Khosravi-Darani, K. (2013): Supplementation of *Spirulina platensis* and *Chlorella vulgaris* algae into probiotic milks. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **12** 144–154.

27. Belay, A. (1997): Mass culture of *Spirulina* outdoors: the Earthrise Farms experience. In: Vonshak, A. (Ed.), *Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, Cell-biology and Biotechnology*. Taylor and Francis, London, UK. pp. 131–158.
28. Belay, A. (2008): *Spirulina (Arthrospira)*: production and quality assurance. In: Gershwin, M.E., Belay, A. (Eds), *Spirulina in Human Nutrition and Health*. CRC Press, Boca Raton, FL. pp. 1–25.
29. Beltrán, M.C., Althaus, R.L., Molina, A., Berruga, M.I., Molina, M.P. (2015): Analytical strategy for the detection of antibiotic residues in sheep and goat's milk. *Spanish Journal of Agricultural Research* **13** (1) e05-001. 9 pp.
30. Berruga, M.I., Molina, A., Althaus, R.L., Molina, M.P. (2016): Control and prevention of antibiotic residues and contaminants in sheep and goat's milk. *Small Ruminant Research* **142** 38–43.
31. Bersaglieri, T., Sabeti, P.C., Patterson, N., Vanderploeg, T., Schaffner, S.F., Drake, J.A., Rhodes, M., Reich, D.E., Hirschhorn, J.N. (2004): Genetic signatures of strong recent positive selection at the lactase gene. *American Journal of Human Genetics* **74** 1111–1120.
32. Bhat, V.B., Madyastha, K.M. (2000): C-phycocyanin: a potent peroxy radical scavenger in vivo and in vitro. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **275** 20–25.
33. Biavati, B., Vescovo, M., Torriani, S., Bottazzi, V. (2000): Bifidobacteria: history, ecology, physiology and applications. *Annals of Microbiology* **50** 117–131.
34. Boerema, J.A., Clemens, R., Brightwell, G. (2006): Evaluation of molecular methods to determine enterotoxigenic status and molecular genotype of bovine, ovine, human and food isolates of *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Food Microbiology* **107** 192–201.
35. Bogdanov, S. (2009): Honey for nutrition and health. In: Bogdanov, S. (Ed.), *Book of Honey*. Bee Product Science, Muehlethurnen, Switzerland. pp. 1–31.
36. Bogdanov, S. (2011): Honey as a nutrient and functional food. In: Bogdanov, S. (Ed.), *The Bee Products: The Wonders of the Bee Hexagon*. Bee Product Science, Muehlethurnen, Switzerland. pp. 57–88.
37. Bogdanovičová, K., Vyletřlová-Klimešová, M., Babák, V., Kalhotka, L., Kolářčková, I., Karpíšková, R. (2016): Microbiological quality of raw milk in the Czech Republic. *Czech Journal of Food Sciences* **34** 189–196.
38. Bogucki, P.I. (1984): Ceramic sieves of the Linear Pottery culture and their economic implications. *Oxford Journal of Archaeology* **3** 15–30.
39. Bonardi, S., Chiavaro, E., Maggi, E. (2000): Confronto tra IMS e VIDAS-ICE per la ricerca di *Escherichia coli* O157:H7 in latte e panna. *Industrie Alimentari* **39** 1123–1126.
40. Borchers, A.T., Belay, A., Keen, C.L., Gershwin, M.E. (2008): *Spirulina* and immunity. In: Gershwin, M.E., Belay, A. (Eds), *Spirulina in Human Nutrition and Health*. CRC Press, Boca Raton, FL. pp. 177–193.
41. Borczyk, A.A., Karmali, M.A., Lior, H., Duncan, L.M.C. (1987): Bovine reservoir for verotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7. *Lancet* **329** 98–98.
42. Bozanic, R., Rogelj, I., Tratnik, L.J. (2001): Fermented acidophilus goat's milk supplemented with inulin: comparison with cow's milk. *Milchwissenschaft* **56** 618–622.

43. Bramanti, B., Thomas, M.G., Haak, W., Unterlaender, M., Jores, P., Tambets, K., Antanaitis-Jacobs, I., Haidle, M.N., Jankauskas, R., Kind, C.J., Lueth, F., Terberger, T., Hiller, J., Matsumura, S., Forster, P., Burger, J. (2009): Genetic discontinuity between local hunter-gatherers and central Europe's first farmers. *Science* **326** 137–140.
44. Brown, G.D., Kosikowski, F.V. (1970): How to make honey yoghurt. *American Dairy Review* **32** (4) 60–62.
45. Bundesgesundheitsamt (1990): Untersuchung von Lebensmitteln – Bestimmung von *Enterobacteriaceae* in Eiern, Eiprodukten, Mayonnaisen, emulgierten Soßen und kalten Fertigsoßen; Gußverfahren (Referenzverfahren). *Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG* no. L 05.00–5. Beuth Verlag, Berlin, Köln, Deutschland.
46. Bundesgesundheitsamt (1991): Untersuchung von Lebensmitteln – Bestimmung der Anzahl von Hefen und Schimmelpilzen in Milch und Milchprodukten (Referenzverfahren). *Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG* no. L 01.00–37. Beuth Verlag, Berlin, Köln, Deutschland.
47. Bundesgesundheitsamt (1992): Untersuchung von Lebensmitteln – Bestimmung der *Escherichia coli* in Milch und Milchprodukten; Fluoreszenzoptisches Verfahren mit paralleler Bestimmung coliformer Keime. *Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG* no. L 01.00–54. Beuth Verlag, Berlin, Köln, Deutschland.
48. Bundesgesundheitsamt (2004a): Untersuchung von Lebensmitteln – Horizontales Verfahren für die Zählung von Mikroorganismen – Koloniezählverfahren bei 30°C. *Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG* no. L 00.00–88. Beuth Verlag, Berlin, Köln, Deutschland.
49. Bundesgesundheitsamt (2004b): Untersuchung von Lebensmitteln – Horizontales Verfahren zum Nachweis von *Salmonella* spp. in Lebensmitteln. *Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG* no. L 00.00–20. Beuth Verlag, Berlin, Köln, Deutschland.
50. Bundesgesundheitsamt (2004c): Untersuchung von Lebensmitteln – Verfahren für die Zählung von koagulase-positiven Staphylokokken (*Staphylococcus aureus* und andere Spezies) in Lebensmitteln – Teil 1: Verfahren mit Baird-Parker Agar. *Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG* no. L 00.00–55. Beuth Verlag, Berlin, Köln, Deutschland.
51. Cavicchioli, V.Q., Scatamburlo, T.M., Yamazi, A.K., Pieri, F.A., Nero, L.A. (2015): Occurrence of *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, and enterotoxigenic *Staphylococcus* in goat milk from small and medium-sized farms located in Minas Gerais State, Brazil. *Journal of Dairy Science* **98** 8386–8390.
52. Check, E. (2007): How Africa learned to love the cow. *Nature* **444** 994–996.
53. Chen, J., Wang, Y., Benemann, J.R., Zhang, X.C., Hu, H.J., Qin, S. (2016): Microalgal industry in China: challenges and prospects. *Journal of Applied Phycology* **28** 715–725.
54. Cheng, J.H., Wang, Y., Cao, Y.Z., Yan, W.G., Niu, X.S., Zhou, L.P., Chen, J.H., Sun, Y., Li, C.X., Zhang, X.R., Wu, Y.T. (2016): The distribution of 18 enterotoxin and enterotoxin-like genes in *Staphylococcus aureus* strains from different sources in east China. *Foodborne Pathogens and Disease* **13** 171–176.

55. Chenoll, E., Casinos, B., Bataller, E., Buesa, J., Ramón, D., Genovés, S., Fábrega, J., Urgell, M.R., Muñoz, J.A.M. (2016): Identification of a peptide produced by *Bifidobacterium longum* CECT 7210 with antirotaviral activity. *Frontiers in Microbiology* **7** 655. 11 pp.
56. Chick, H., Shin, H.S., Ustunol, Z. (2001): Growth and acid production by lactic acid bacteria and bifidobacteria grown in skim milk containing honey. *Journal of Food Science* **66** 478–481.
57. Chopra, K., Bishnoi, M. (2008): Antioxidant profile of *Spirulina*: a blue-green microalga. In: Gershwin, M.E., Belay, A. (Eds), *Spirulina in Human Nutrition and Health*. CRC Press, Boca Raton, FL. pp. 101–118.
58. Chr. Hansen A/S (1995): Production of fermented milk products with contents of *Lactobacillus acidophilus*, bifidobacteria and *Streptococcus thermophilus* (ABT). In: *Nu-trish Cultures*. Chr. Hansen A/S, Hørsholm, Denmark. pp. 17–19.
59. Chr. Hansen A/S (2001): *Product Range: Dairy Cultures*. Chr. Hansen A/S, Hørsholm, Denmark. 17 pp.
60. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) (2006): Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. *16th Informational Supplement* (M100-S16). CLSI, Wayne, PA.
61. Cohen, Z. (1997): The chemicals of *Spirulina*. In: Vonshak, A. (Ed.), *Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, Cell-biology and Biotechnology*. Taylor and Francis, London, UK. pp. 175–204.
62. Conesa, C., Sánchez, L., Rota, C., Pérez, M.D., Calvo, M., Farnaud, S., Evans, R.W. (2008): Isolation of lactoferrin from milk of different species: calorimetric and antimicrobial studies. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* **150** 131–139.
63. Copley, M.S., Berstan, R., Dudd, S.N., Docherty, G., Mukherjee, A.J., Straker, V., Payne, S., Evershed, R.P. (2003): Direct chemical evidence for widespread dairying in prehistoric Britain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **100** 1524–1529.
64. Cortimiglia, C., Bianchini, V., Franco, A., Caprioli, A., Battisti, A., Colombo, L., Stradiotto, K., Vezzoli, F., Luini, M. (2015): Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* in bulk tank milk from dairy goat farms in Northern Italy. *Journal of Dairy Science* **98** 2307–2311.
65. Council of the European Communities (1992): Council Directive 92/46/EEC of 16 June 1992 laying down the health rules for the production and placing on the market of raw milk, heat-treated milk and milk-based products. *Official Journal of the European Communities* **L268** 1–32.
66. Council of the European Union (2007): Council Regulation (EC) no. 1234/2007 of 22 October 2007 establishing a common organisation of agricultural markets and on specific provisions for certain agricultural products (Single CMO Regulation). *Official Journal of the European Union* **L 299** 1–149.
67. Craig, O.E., Chapman, J., Heron, C., Willis, L.H., Bartosiewicz, L., Taylor, G., Whittle, A., Collins, M. (2005): Did the first farmers of central and eastern Europe produce dairy foods? *Antiquity* **79** 882–894.
68. Čurda, L., Plocková, M. (1995): Impedance measurement of growth of lactic acid bacteria in dairy cultures with honey addition. *International Dairy Journal* **5** 727–733.
69. Curry, A. (2013): The milk revolution. *Nature* **500** 20–22.
70. Czeizel, A., Flatz, G., Flatz, S.D. (1983): Prevalence of primary adult lactose malabsorption in Hungary. *Human Genetics* **64** 398–401.

71. Csanádi, J., Fenyvessy, J., Bohata, S. (2015): Somatic cell count of milk from different goat breeds. *Acta Universitatis Sapientiae – Alimentaria* **8** 45–54.
72. Csanádi, J., Fenyvessy, J., Bohata, S. (2016): Somatic cell count of milk from different goat breeds in Hungary. In: Kukovics, S. (Ed.), *Sustainable Goat Breeding and Goat Farming in Central and Eastern Europe*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. pp. 215–222.
73. Csapó, J., Vargáné Visi, É., Salamon, R., Salamon, Sz., Csapóné Kiss, Zs. (2014): Tejsavbaktériumok által termelt exopoliszacharidok és oligoszacharidok szerkezeti és mennyiségi analízise. *Tejgazdaság* **74** (1–2) 3–17.
74. Császár, G. (2016): A korszerű nyers tej minősítés rendszere és a tej minősége Magyarországon. *A Magyar Tudományos Akadémia Agrártudományok Osztálya Állatnemesítési, -tenyésztési, Takarmányozási és Gyepgazdálkodási Tudományos Bizottságának ülése*. Előadás. Budapest, 2016. október 21.
75. Császár, G., Tardy, E., Unger, A. (2013): Korszerű nyerstej minősítés rendszere és a tej minősége Magyarországon. *“Magyar Élelmiszerkönyv – Tejtermékek” szakmai nap*. Előadás. Vidékfejlesztési Minisztérium, Budapest, 2013. október 15. http://elelmiszerlanc.kormany.hu/?_preview=16219d8b-5638-1b29-d342-000031f374f6. Utolsó belépés: 2016. október 3.
76. Császár, G., Unger, A., Varga, L. (2011): Evolution of raw bovine milk quality: the Hungarian experience (1984-2009). *American Dairy Science Association – American Society of Animal Science 2011 Joint Annual Meeting*. Book of Abstracts. New Orleans, Louisiana: *Journal of Dairy Science* **94** (E-Supplement 1), 324–324.
77. Daróczi, L. (2009): Minőségbiztosítás a kiskérődzők tejtermelésében és a tejtermékek előállításában. In: Kukovics, S. (Szerk.), *A Tej Szerepe a Humán Táplálkozásban*. Melánia Kiadó, Budapest. pp. 133–142.
78. De Buyser, M.L., Dufour, B., Maire, M., Lafarge, V. (2001): Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialised countries. *International Journal of Food Microbiology* **67** 1–17.
79. De Caire, G.Z., Parada, J.L., Zaccaro, M.C., De Cano, M.M.S. (2000): Effect of *Spirulina platensis* biomass on the growth of lactic acid bacteria in milk. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **16** 563–565.
80. De Mulé, M.C.Z., De Caire, G.Z., De Cano, M.S. (1996): Bioactive substances from *Spirulina platensis* (Cyanobacteria). *Phyton* **58** 93–96.
81. De Vrese, M., Schrezenmeir, J. (2008): Probiotics, prebiotics, and synbiotics. *Advances in Biochemical Engineering – Biotechnology* **111** 1–66.
82. Deeth, H.C., Tamime, A.Y. (1981): Yoghurt: nutritive and therapeutic aspects. *Journal of Food Protection* **44** 78–86.
83. Delgado-Pertiñez, M., Alcalde, M.J., Guzmán-Guerrero, J.L., Castel, J.M., Mena, Y., Caravaca, F. (2003): Effect of hygiene-sanitary management on goat milk quality in semi-extensive systems in Spain. *Small Ruminant Research* **47** 51–61.
84. Desmarchelier, P., Fegan, N. (2011): *Escherichia coli*. In: Fuquay, J.W., Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. (Eds), *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Vol. 4, 2nd ed. Academic Press and Elsevier, Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo. pp. 60–66.
85. Dohoo, I.R., Meek, A.H. (1982): Somatic cell counts in bovine milk. *Canadian Veterinary Journal* **23** (4) 119–125.

86. Droke, E.A., Paape, M.J., DiCarlo, A.L. (1993): Prevalence of high somatic cell counts in bulk tank goat milk. *Journal of Dairy Science* **76** 1035–1039.
87. Dustmann, J.H. (1979): Antibacterial effect of honey. *Apicata* **14** 7–11.
88. Edwards, C.J., Bollongino, R., Scheu, A., Chamberlain, A., Tresset, A., Vigne, J.D., Baird, J.F., Larson, G., Ho, S.Y.W., Heupink, T.H., Shapiro, B., Freeman, A.R., Thomas, M.G., Arbogast, R.M., Arndt, B., Bartosiewicz, L., Benecke, N., Budja, M., Chaix, L., Choyke, A.M., Coqueugniot, E., Döhle, H.J., Göldner, H., Hartz, S., Helmer, D., Herzig, B., Hongo, H., Mashkour, M., Özdoğan, M., Pucher, E., Roth, G., Schade-Lindig, S., Schmölcke, U., Schulting, R.J., Stephan, E., Uerpman, H.P., Vörös, I., Voytek, B., Bradley, D.G., Burger, J. (2007): Mitochondrial DNA analysis shows a Near Eastern Neolithic origin for domestic cattle and no indication of domestication of European aurochs. *Proceedings of the Royal Society B* **274** 1377–1385.
89. El-Agamy, E.I. (2000): Effect of heat treatment on camel milk proteins with respect to antimicrobial factors: a comparison with cows' and buffalo milk proteins. *Food Chemistry* **68** 227–232.
90. El-Agamy, E.I. (2006): Camel milk. In: Park, Y.W., Haenlein, G.F.W. (Eds), *Handbook of Milk of Non-Bovine Mammals*. Blackwell Publishing, Ames, IA. pp. 297–344.
91. El-Agamy, E.I. (2009): Bioactive components in camel milk. In: Park, Y.W. (Ed.), *Bioactive Components in Milk and Dairy Products*. Wiley-Blackwell, Ames, IA. pp. 159–194.
92. El-Agamy, E.I., Abou-Shloue, Z.I., Abdel-Kader, Y.I. (1998): Gel electrophoresis of proteins, physicochemical characterization and vitamin C content of milk of different species. *Alexandria Journal of Agricultural Research* **43** (2) 57–70.
93. El-Salam, M.H.A. (2011): Middle Eastern fermented milks. In: Fuquay, J.W., Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. (Eds), *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Vol. 2, 2nd ed. Academic Press, London, UK. pp. 503–506.
94. Enattah, N.S., Sahi, T., Savilahti, E., Terwilliger, J.D., Peltonen, L., Järvelä, I. (2002): Identification of a variant associated with adult-type hypolactasia. *Nature Genetics* **30** 233–237.
95. Erickson, M.C., Doyle, M.P. (2007): Food as a vehicle for transmission of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Journal of Food Protection* **70** 2426–2449.
96. Estrada, J.E., Bescós P., Del Fresno, A.M.V. (2001): Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extract. *Il Farmaco* **56** 497–500.
97. European Food Safety Authority (EFSA) (2015): Scientific opinion of the EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ) on the public health risks related to the consumption of raw drinking milk. *EFSA Journal* **13** (1) 3940. 95 pp.
98. European Food Safety Authority (EFSA), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) (2015): The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014. *EFSA Journal* **13** (12) 4329. 191 pp.
99. European Parliament, Council of the European Union (2004a): Regulation (EC) no. 852/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 on the hygiene of foodstuffs. *Official Journal of the European Union* **L139** 1–54.
100. European Parliament, Council of the European Union (2004b): Regulation (EC) no. 853/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 laying down specific hygiene rules for food of animal origin. *Official Journal of the European Union* **L139** 55–205.

101. European Parliament, Council of the European Union (2004c): Regulation (EC) no. 854/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 laying down specific rules for the organisation of official controls on products of animal origin intended for human consumption. *Official Journal of the European Union* **L139** 206–320.
102. Evershed, R.P., Payne, S., Sherratt, A.G., Copley, M.S., Coolidge, J., Urem-Kotsu, D., Kotsakis, K., Özdoğan, M., Özdoğan, A.E., Nieuwenhuys, O., Akkermans, P.M.M.G., Bailey, D., Andeescu, R.R., Campbell, S., Farid, S., Hodder, I., Yalman, N., Özbaşaran, M., Bıçakcı, E., Garfinkel, Y., Levy, T., Burton, M.M. (2008): Earliest date for milk use in the Near East and southeastern Europe linked to cattle herding. *Nature* **455** 528–531.
103. Fagundes, H., Corassin, C.H., Tavolaro, P., Oliveira, C.A.F. (2012): Milk hygienic practices and occurrence of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157:H7 in small-scale dairy farms in São Paulo, Brazil. *African Journal of Microbiology Research* **6** 5805–5808.
104. Falch, B.S., König, G.M., Wright, A.D., Sticher, O., Angerhofer, C.K., Pezzuto, J.M., Bachmann, H. (1995): Biological activities of cyanobacteria: evaluation of extracts and pure compounds. *Planta Medica* **61** 321–328.
105. Farnworth, E.R. (2008): The evidence to support health claims for probiotics. *Journal of Nutrition* **138** 1250S–1254S.
106. Fábri, Zs.N., Varga, L., Nagy, P. (2014a): A tevétej termelése, általános jellemzői, összetétele és egészségre gyakorolt jótékony hatásai. Irodalmi összefoglaló. 1. Fizikai és kémiai jellemzők, fehérje- és zsírtartalom. *Magyar Állatorvosok Lapja* **136** 485–493.
107. Fábri, Zs.N., Nagy, P., Varga, L. (2014b): A tevétej termelése, általános jellemzői, összetétele és egészségre gyakorolt jótékony hatásai. Irodalmi összefoglaló. 2. Tejcukor-, ásványianyag- és vitamintartalom, egészségügyi előnyök. *Magyar Állatorvosok Lapja* **136** 553–557.
108. Fegan, N., Desmarchelier, P. (2010): Pathogenic *E. coli* in the dairy industry: implications for Australia. *Australian Journal of Dairy Technology* **65** 68–73.
109. Fekadu, B., Soryal, K., Zeng, S., Van Hekken, D., Bah, B., Villaquiran, M. (2005): Changes in goat milk composition during lactation and their effect on yield and quality of hard and semi-hard cheeses. *Small Ruminant Research* **59** 55–63.
110. Fenyvessy J., Csanádi J., Jankóné F.J. (2008): Az élelmiszeripari anyagok minőségi alkalmassága a funkcionális élelmiszer előállításához. In: Nagy J., Schmidt J., Jávör A. (Szerk.), *A Jövő Élelmiszerei és az Egészség*. Center-Print, Debrecen. pp. 139–153.
111. Flambard, B., Johansen, E. (2007): Developing a functional dairy product: from research on *Lactobacillus helveticus* to industrial application of Cardi-04TM in novel antihypertensive drinking yoghurts. In: Saarela, M. (Ed.), *Functional Dairy Products*, Vol. 2. CRC Press and Woodhead Publishing, Boca Raton, FL and Cambridge, UK. pp. 506–520.
112. Foddai, A.C.G., Grant, I.R. (2015): An optimised milk testing protocol to ensure accurate enumeration of viable *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* by the PMS-phage assay. *International Dairy Journal* **51** 16–23.
113. Foschino, R., Invernizzi, A., Barucco, R., Stradiotto, K. (2002): Microbial composition, including the incidence of pathogens, of goat milk from the Bergamo region of Italy during a lactation year. *Journal of Dairy Research* **69** 213–225.

114. Foster, T.J. (2011): *Staphylococcus aureus* – molecular. In: Fuquay, J.W., Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. (Eds), *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Vol. 4, 2nd ed. Academic Press and Elsevier, Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo. pp. 104–110.
115. Földművelésügyi és Vidékfejlesztési Minisztérium (FVM) (2010): 52/2010. (IV. 30.) FVM rendelet a kistermelői élelmiszer-termelés, -előállítás és -értékesítés feltételeiről. *Magyar Közlöny* **66** 14360–14368.
116. Földművelésügyi és Vidékfejlesztési Minisztérium (FVM), Egészségügyi, Szociális és Családügyi Minisztérium (ESZCSM) (2003): 1/2003. (I. 8.) FVM–ESZCSM együttes rendelet a nyers tej, a hőkezelt tej és a tejalapú termékek előállításának, forgalomba hozatalának élelmiszer-higiéniai feltételeiről. *Magyar Közlöny* **59** 59–89.
117. Földművelésügyi és Vidékfejlesztési Minisztérium (FVM), Szociális és Munkaügyi Minisztérium (SZMM) (2008): 16/2008. (II. 15.) FVM–SZMM együttes rendelet a nyers tej vizsgálatáról. *Magyar Közlöny* **64** 969–971.
118. Fukuda, K. (2013): Camel milk. In: Park, Y.W., Haenlein, G.F.W. (Eds), *Milk and Dairy Products in Human Nutrition: Production, Composition and Health*. John Wiley and Sons, Oxford, UK. pp. 578–593.
119. Fuller, R. (1989): Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology* **66** 365–378.
120. Gerbault, P., Roffet-Salque, M., Evershed, R.P., Thomas, M.G. (2013): How long have adult humans been consuming milk? *IUBMB Life* **65** 983–990.
121. Ghoddusi, H.B., Hassan, K. (2011): Selective enumeration of bifidobacteria: a comparative study. *Milchwissenschaft* **66** 149–151.
122. Gibson, G.R., Beatty, E.R., Wang, X., Cummings, J.H. (1995): Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology* **108** 975–982.
123. Gibson, G.R., Roberfroid, M.B. (1995): Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition* **125** 1401–1412.
124. Ginovart, M., López, D., Valls, J., Silbert, M. (2002): Simulation modelling of bacterial growth in yoghurt. *International Journal of Food Microbiology* **73**, 415–425.
125. Gläser, H. (1992): Living bacteria in yoghurt and other fermented milk products. *European Dairy Magazine* **4** (1) 6–15.
126. Glušac, J., Stijepić, M., Đurđević-Milošević, D., Milanović, S., Kanurić, K., Vukić, V. (2015): Growth and viability of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in traditional yoghurt enriched by honey and whey protein concentrate. *Iranian Journal of Veterinary Research* **16** 249–254.
127. Golmakani, M.T., Rezaei, K., Mazidi, S., Razavi, S.H. (2012): Gamma-linolenic acid production by *Arthrospira platensis* using different carbon sources. *European Journal of Lipid Science and Technology* **114** 306–314.
128. Graham, L.E., Graham, J.M., Wilcox, L.W. (2009a): Technological applications of algae. In: Graham, L.E., Graham, J.M., Wilcox, L.W. (Eds), *Algae*, 2nd ed. Pearson Benjamin Cummings, San Francisco, CA. pp. 61–77.
129. Graham, L.E., Graham, J.M., Wilcox, L.W. (2009b): Cyanobacteria (Chloroxybacteria). In: Graham, L.E., Graham, J.M., Wilcox, L.W. (Eds), *Algae*, 2nd ed. Pearson Benjamin Cummings, San Francisco, CA. pp. 94–121.

130. Greenfield, H.J. (2010): The Secondary Products Revolution: the past, the present and the future. *World Archaeology* **42** 29–54.
131. Griffin, I.J., Abrams, S.A. (2008): Effects of prebiotics on mineral absorption: mechanisms of action. In: Gibson, G.R., Roberfroid, M.B. (Eds), *Handbook of Prebiotics*. CRC Press, Boca Raton, FL. pp. 93–104.
132. Griffiths, M.W. (2010): The microbiological safety of raw milk. In: Griffiths, M.W. (Ed.), *Improving the Safety and Quality of Milk*, Vol. 1. CRC Press and Woodhead Publishing, Boca Raton, FL and Cambridge, UK. pp. 27–63.
133. Gueimonde, M., Delgado, S., Mayo, B., Ruas-Madiedo, P., Margolles, A., De Los Reyes-Gavilán, C.G. (2004): Viability and diversity of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* populations included in commercial fermented milks. *Food Research International* **37** 839–850.
134. Guldás, M., Irkin, R. (2010): Influence of *Spirulina platensis* powder on the microflora of yoghurt and acidophilus milk. *Mljekarstvo* **60** 237–243.
135. Gurr, M.I. (1987): Nutritional aspects of fermented milk products. *FEMS Microbiology Reviews* **46** 337–342.
136. Hata, E., Katsuda, K., Kobayashi, H., Ogawa, T., Endo, T., Eguchi, M. (2006): Characteristics and epidemiologic genotyping of *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitic milk in Hokkaido, Japan. *Journal of Veterinary Medical Science* **68** 165–170.
137. Hernández-Corona, A., Nieves, I., Meckes, M., Chamorro, G., Barron, B.L. (2002): Antiviral activity of *Spirulina maxima* against herpes simplex virus type 2. *Antiviral Research* **56** 279–285.
138. Herrera, F.C., García-López, M.L., Santos, J.A. (2016): Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk fresh cheese in Colombia. *Journal of Dairy Science* **99** 7872–7876.
139. Hirahashi, T., Matsumoto, M., Hazeki, K., Saeki, Y., Ui, M., Seya, T. (2002): Activation of the human innate immune system by *Spirulina*: augmentation of interferon production and NK cytotoxicity by oral administration of hot water extract of *Spirulina platensis*. *International Immunopharmacology* **2** 423–434.
140. Holden, C., Mace, R. (1997): Phylogenetic analysis of the evolution of lactose digestion in adults. *Human Biology* **69** 605–628.
141. Hussein, H.S., Sakuma, T. (2005): Prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in dairy cattle and their products. *Journal of Dairy Science* **88** 450–465.
142. International Dairy Federation (IDF) (1997): Yoghurt: enumeration of characteristic microorganisms – Colony count technique at 37°C. *International Standard* FIL-IDF 117B:1997. IDF, Brussels, Belgium.
143. International Dairy Federation (IDF) (2015): *The World Dairy Situation 2015 – Bulletin of the IDF* 481/2015. IDF, Brussels, Belgium. 252 pp.
144. International Organization for Standardization (ISO) (1997a): Milk and milk products – Enumeration of presumptive *Escherichia coli* – Part 1: Most probable number technique. *International Standard* ISO 11866-1:1997. ISO, Geneva, Switzerland.
145. International Organization for Standardization (ISO) (1997b): Milk – Enumeration of somatic cells – Part 3: Fluoro-opto-electronic method. *International Standard* ISO 13366-3:1997. ISO, Geneva, Switzerland.

146. International Organization for Standardization (ISO) (1999): Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) – Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium. *International Standard* EN ISO 6888-1:1999. ISO, Geneva, Switzerland.
147. International Organization for Standardization (ISO) (2004): Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae* – Part 2: Colony count method. *International Standard* ISO 21528-2:2004. ISO, Geneva, Switzerland.
148. International Organization for Standardization (ISO) (2006): Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony-count technique. *International Standard* ISO 4832:2006. ISO, Geneva, Switzerland.
149. International Organization for Standardization (ISO) (2008): Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds – Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0.95. *International Standard* ISO 21527-1:2008. ISO, Geneva, Switzerland.
150. International Organization for Standardization (ISO) (2013): Microbiology of the food chain – Horizontal method for the enumeration of microorganisms – Part 1: Colony count at 30°C by the pour plate technique. *International Standard* ISO 4833-1:2013. ISO, Geneva, Switzerland.
151. International Organization for Standardization (ISO), International Dairy Federation (IDF) (2006): Milk products – Enumeration of presumptive *Lactobacillus acidophilus* on a selective medium – Colony-count technique at 37°C. *International Standard* ISO 20128:2006(E) and IDF 192:2006(E). ISO, Geneva, Switzerland and IDF, Brussels, Belgium.
152. International Organization for Standardization (ISO), International Dairy Federation (IDF) (2010): Milk products – Enumeration of presumptive bifidobacteria – Colony count technique at 37°C. *International Standard* ISO 29981:2010(E) and IDF 220:2010(E). ISO, Geneva, Switzerland and IDF, Brussels, Belgium.
153. Itan, Y., Jones, B.L., Ingram, C.J.E., Swallow, D.M., Thomas, M.G. (2010): A worldwide correlation of lactase persistence phenotype and genotypes. *BMC Evolutionary Biology* **10** 36. 11 pp.
154. Itan, Y., Powell, A., Beaumont, M.A., Burger, J., Thomas, M.G. (2009): The origins of lactase persistence in Europe. *PLoS Computational Biology* **5** (8) e1000491. 13 pp.
155. Jagielski, T., Puacz, E., Lisowski, A., Siedlecki, P., Dudziak, W., Międzobrodzki, J., Krukowski, H. (2014): Antimicrobial susceptibility profiling and genotyping of *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis in Poland. *Journal of Dairy Science* **97** 6122–6128.
156. Jancsó, A., Császár, G., Varga, L. (2016): Árúsítási és árképzési gyakorlatok a termelői nyers tehéntej közvetlen értékesítésében (Selling and pricing practices in the direct sales of producer's raw cow's milk). *Élelmiszervizsgálati Közlemények* **62** 1190–1223.
157. Jarraud, S., Peyrat, M.A., Lim, A., Tristan, A., Bes, M., Mougél, C., Etienne, J., Vandenesch, F., Bonneville, M., Lina, G. (2001): *egc*, a highly prevalent operon of enterotoxin gene, forms a putative nursery of superantigens in *Staphylococcus aureus*. *Journal of Immunology* **166** 669–677.

158. Jin, W., Yamada, K. (2016): Staphylococcal enterotoxins in processed dairy products. In: Kotzekidou, P. (Ed.), *Food Hygiene and Toxicology in Ready-to-Eat Foods*. Academic Press and Elsevier, London, San Diego, Cambridge, Oxford. pp. 241–258.
159. Johler, S., Giannini, P., Jermini, M., Hummerjohann, J., Baumgartner, A., Stephan, R. (2015): Further evidence for staphylococcal food poisoning outbreaks caused by *egc*-encoded enterotoxins. *Toxins* **7** 997–1004.
160. Jørgensen, H.J., Mørk, T., Caugant, D.A., Kearns, A., Rørvik, L.M. (2005a): Genetic variation among *Staphylococcus aureus* strains from Norwegian bulk milk. *Applied and Environmental Microbiology* **71** 8352–8361.
161. Jørgensen, H.J., Mørk, T., Rørvik, L.M. (2005b): The occurrence of *Staphylococcus aureus* on a farm with small-scale production of raw milk cheese. *Journal of Dairy Science* **88** 3810–3817.
162. Kadariya, J., Smith, T.C., Thapaliya, D. (2014): *Staphylococcus aureus* and staphylococcal food-borne disease: an ongoing challenge in public health. *BioMed Research International* Article ID 827965. 9 pp.
163. Kailasapathy, K. (2011a): Prebiotics, prebiotic yoghurts and health benefits. In: Kailasapathy, K., Champagne, C., Moore, S. (Eds), *Synbiotic Yoghurt – A Smart Gut Food: Science, Technology and Applications*. Nova Science Publishers, New York, NY. pp. 81–98.
164. Kailasapathy, K. (2011b): Synbiotic yoghurts: concept, definition, recent trends, health benefits and applications. In: Kailasapathy, K., Champagne, C., Moore, S. (Eds), *Synbiotic Yoghurt – A Smart Gut Food: Science, Technology and Applications*. Nova Science Publishers, New York, NY. pp. 99–115.
165. Kailasapathy, K., Champagne, C.P. (2011): Probiotics and probiotic yoghurts and health benefits. In: Kailasapathy, K., Champagne, C., Moore, S. (Eds), *Synbiotic Yoghurt – A Smart Gut Food: Science, Technology and Applications*. Nova Science Publishers, New York, NY. pp. 49–79.
166. Kajiwarra, S., Gandhi, H., Ustunol, Z. (2002): Effect of honey on the growth of and acid production by human intestinal *Bifidobacterium* spp.: an in vitro comparison with commercial oligosaccharides and inulin. *Journal of Food Protection* **65** 214–218.
167. Kappeler, S.R., Farah, Z., Puhani, Z. (2003): 5'-flanking regions of camel milk genes are highly similar to homologue regions of other species and can be divided into two distinct groups. *Journal of Dairy Science* **86** 498–508.
168. Karns, J.S., Van Kessel, J.S., McClusky, B.J., Perdue, M.L. (2007): Incidence of *Escherichia coli* O157:H7 and *E. coli* virulence factors in US bulk tank milk as determined by polymerase chain reaction. *Journal of Dairy Science* **90** 3212–3219.
169. Katsuda, K., Hata, E., Kobayashi, H., Kohmoto, M., Kawashima, K., Tsunemitsu, H., Eguchi, M. (2005): Molecular typing of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitic milk on the basis of toxin genes and coagulase gene polymorphisms. *Veterinary Microbiology* **105** 301–305.
170. Kechagia, M., Basoulis, D., Konstantopoulou, S., Dimitriadi, D., Gyftopoulou, K., Skarmoutsou, N., Fakiri, E.M. (2013): Health benefits of probiotics: a review. *ISRN Nutrition* Article ID 481651, 7 pp.
171. Keene, W.E., Hedberg, K., Herriott, D.E., Hancock, D.D., McKay, R.W., Barrett, T.J., Fleming, D.W. (1997): Prolonged outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections caused by commercially distributed raw milk. *Journal of Infectious Diseases* **176** 815–818.

172. Kessler, H.G. (1988a): Erhizten and Auswirkungen. In: Kessler, H.G. (Ed.), *Lebensmittel- und Bioverfahrentechnik – Molkereitechnologie*. Verlag A Kessler, Freising, BRD, pp. 132–195.
173. Kessler, H.G. (1988b): Technologie der Sauermilchprodukte – Milcherzeugnisse und Hydrokolloidanwendung. In: Kessler, H.G. (Ed.), *Lebensmittel- und Bioverfahrentechnik – Molkereitechnologie*. Verlag A Kessler, Freising, BRD, pp. 404–426.
174. Kérouanton, A., Hennekinne, J.A., Letertre, C., Petit, L., Chesneau, O., Brisabois, A., De Buyser, M.L. (2007): Characterization of *Staphylococcus aureus* strains associated with food poisoning outbreaks in France. *International Journal of Food Microbiology* **115** 369–375.
175. Khan, Z., Bhadouria, P., Bisen, P.S. (2005): Nutritional and therapeutic potential of *Spirulina*. *Current Pharmaceutical Biotechnology* **6** 373–379.
176. Kitchen, B.J. (1981): Milk compositional changes and related diagnostic tests. Reviews of the progress of dairy science. *Journal of Dairy Research* **48** 167–188.
177. Kneafsey, M., Venn, L., Schmutz, U., Balázs, B., Trenchard, L., Eyden-Wood, T., Bos, E., Sutton, G., Blackett, M. (2013): *Short Food Supply Chains and Local Food Systems in the EU. A State of Play of their Socio-Economic Characteristics*. Publications Office of the European Union, Luxembourg, 177 pp.
178. Kneifel, W., Czech, E., Kopp, B. (2002): Microbial contamination of medicinal plants. *Planta Medica* **68** (1) 5–15.
179. Kondyli, E., Svarnas, C., Samelis, J., Katsiari, M.C. (2012): Chemical composition and microbiological quality of ewe and goat milk of native Greek breeds. *Small Ruminant Research* **103** 194–199.
180. Konuspayeva, G., Faye, B., Loiseau, G. (2009): The composition of camel milk: a meta-analysis of the literature data. *Journal of Food Composition and Analysis* **22** 95–101.
181. Konuspayeva, G., Faye, B., Loiseau, G., Narmuratova, M., Ivashchenko, A., Meldebekova, A., Davletov, S. (2010): Physiological change in camel milk composition (*Camelus dromedarius*) 1. Effect of lactation stage. *Tropical Animal Health and Production* **42** 495–499.
182. Krász, Á. (2002): Adatok a probiotikus tejtermékek hasznos élő mikrobaszámához és tárolás alatti változásához. XXIX. Óvári Tudományos Napok “Agrártermelés – Életminőség”. Az előadások és poszterek teljes terjedelemben megjelent anyagai. Nyugat-magyarországi Egyetem, Mezőgazdaság- és Élelmiszer-tudományi Kar, Mosonmagyaróvár, Compact Disc, 5 pp.
183. Kretchmer, N. (1971): Lactose and lactase: a historical perspective. *Gastroenterology* **61** 805–813.
184. Kudelka, W. (2010): Probiotics in natural bio-yoghurts of goats’ milk. *Milchwissenschaft* **65** 407–410.
185. Kukovics, S. (2015): A fajta, a technológia, a termék és a piac. A Magyar Tudományos Akadémia Agrártudományok Osztálya Állatnemesítési, -tenyésztési, Takarmányozási és Gyepgazdálkodási Tudományos Bizottságának ülése. Előadás. Fülöpszállás, 2015. november 20.
186. Kukovics, S., Ábrahám, M., Németh, T. (2004): A magyarországi juh- és kecsketej higiéniai tulajdonságai és minősítése. *Tejgazdaság* **64** (2) 35–40.

187. Kukovics, S., Németh, T., Ábrahám, M., Orbán, Gy. (2009): A juh- és a kecsketej minősége. In: Kukovics, S. (Szerk.), *A Tej Szerepe a Humán Táplálkozásban*. Melánia Kiadó, Budapest. pp. 401–416.
188. Kuś, P.M., Szweda, P., Jerković, I., Tuberoso, C.I.G. (2016): Activity of Polish unifloral honeys against pathogenic bacteria and its correlation with colour, phenolic content, antioxidant capacity and other parameters. *Letters in Applied Microbiology* **62** 269–276.
189. Kwon, N.H., Kim, S.H., Park, K.T., Bae, W.K., Kim, J.Y., Lim, J.Y., Ahn, J.S., Lyoo, K.S., Kim, J.M., Jung, W.K., Noh, K.M., Bohach, G.A., Park, Y.H. (2004): Application of extended single-reaction multiplex polymerase chain reaction for toxin typing of *Staphylococcus aureus* isolates in South Korea. *International Journal of Food Microbiology* **97** 137–145.
190. Laallam, H., Boughediri, L., Bissati, S., Menasria, T., Mouzaoui, M.S., Hadjadj, S., Hammoudi, R., Chenchouni, H. (2015): Modeling the synergistic antibacterial effects of honey characteristics of different botanical origins from the Sahara Desert of Algeria. *Frontiers in Microbiology* **6** 1239. 12 pp.
191. Laczay, P. (2008a): A zoonózisok élelmiszer-higiéniai jelentősége. In: Laczay, P. (Szerk.), *Élelmiszer-higiénia, Élelmiszerlánc-biztonság*. Mezőgazda Kiadó, Budapest. pp. 217–235.
192. Laczay, P. (2008b): Tejtermelési higiénia. In: Laczay, P. (Szerk.), *Élelmiszer-higiénia, Élelmiszerlánc-biztonság*. Mezőgazda Kiadó, Budapest. pp. 239–307.
193. Laczay, P., Lehel, J., Lányi, K., László, N. (2016): A nyers tejben potenciálisan jelen lévő kórokozók közegészségügyi jelentősége. *Magyar Állatorvosok Lapja* **138** 231–242.
194. LaGrange, V., Ropa, D., Mupoperi, C. (1991): U.S. food industry is “sweet” on honey. *American Bee Journal* **131** 447–458.
195. Laleye, L.C., Jobe, B., Wasesa, A.A.H. (2008): Comparative study on heat stability and functionality of camel and bovine milk whey proteins. *Journal of Dairy Science* **91** 4527–4534.
196. Lankaputhra, W.E.V., Shah, N.P., Britz, M.L. (1996): Survival of bifidobacteria during refrigerated storage in the presence of acid and hydrogen peroxide. *Milchwissenschaft* **51** 65–70.
197. Le Loir, Y., Baron, F., Gautier, M. (2003): *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and Molecular Research* **2** 63–76.
198. Leahy, S.C., Higgins, D.G., Fitzgerald, G.F., Van Sinderen, D. (2005): Getting better with bifidobacteria. *Journal of Applied Microbiology* **98** 1303–1315.
199. Leitner, G., Silanikove, N., Merin, U. (2008): Estimate of milk and curd yield loss of sheep and goats with intramammary infection and its relation to somatic cell count. *Small Ruminant Research* **74** 221–225.
200. Leonardi, M., Gerbault, P., Thomas, M.G., Burger, J. (2012): The evolution of lactase persistence in Europe. A synthesis of archaeological and genetic evidence. *International Dairy Journal* **22** 88–97.
201. Letertre, C., Perelle, S., Dilasser, F., Fach, P. (2003): Identification of a new putative enterotoxin SEU encoded by the *egc* cluster of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Applied Microbiology* **95** 38–43.
202. Lin, M.Y., Savaiano, D., Harlander, S. (1991): Influence of nonfermented dairy products containing bacterial starter cultures on lactose maldigestion in humans. *Journal of Dairy Science* **74** 87–95.

203. Macedo, L.N., Luchese, R.H., Guerra, A.F., Barbosa, C.G. (2008): Efeito prebiótico do mel sobre o crescimento e viabilidade de *Bifidobacterium* spp. e *Lactobacillus* spp. em leite. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* **28** 935–942.
204. Madigan, M.T., Martinko, J.M., Parker, J. (2003): Food preservation and foodborne microbial diseases. In: Madigan, M.T., Martinko, J.M., Parker, J. (Eds), *Brock Biology of Microorganisms*, 10th ed. Prentice Hall, Pearson Education, Upper Saddle River, NJ. pp. 950–964.
205. Magyar Élelmiszerkönyv Bizottság (2003): A nyers- és a hőkezelt tej vizsgálati módszerei (3-1-91/180 számú előírás). In: *Magyar Élelmiszerkönyv*, Hivatalos Élelmiszer-vizsgálati Módszergyűjtemény, VIII. Antibiotikumok és szulfonamidok kimutatása. Magyar Élelmiszerkönyv Bizottság, Budapest, 53 pp.
206. Magyar Élelmiszerkönyv Bizottság (2004): Savanyú tejtermékek. In: *Magyar Élelmiszerkönyv*, 2-51 számú irányelv: Tej és tejtermékek. Magyar Élelmiszerkönyv Bizottság, Budapest. pp. 21–24.
207. Magyar Élelmiszerkönyv Bizottság (2013a): A nyers tej árkonzekvens minősítésének vizsgálati módszerei (3-2-1/2004 számú irányelv), 3. kiadás. In: *Magyar Élelmiszerkönyv*, Hivatalos Élelmiszer-vizsgálati Módszergyűjtemény, III./3. A szomatikus sejtek számának meghatározása. Magyar Élelmiszerkönyv Bizottság, Budapest, 18 pp.
208. Magyar Élelmiszerkönyv Bizottság (2013b): A nyers tej árkonzekvens minősítésének vizsgálati módszerei (3-2-1/2004 számú irányelv), 3. kiadás. In: *Magyar Élelmiszerkönyv*, Hivatalos Élelmiszer-vizsgálati Módszergyűjtemény, III./5. Antibiotikumok és szulfonamidok kimutatása. Magyar Élelmiszerkönyv Bizottság, Budapest, 25 pp.
209. Magyar Szabványügyi Testület (1981a): A tej titrálható savasságának és pH-jának meghatározása. 2. fejezet: A titrálható savfok meghatározása. *Magyar Szabvány MSZ 3707:1981*. Magyar Szabványügyi Testület, Budapest.
210. Magyar Szabványügyi Testület (1981b): A tej titrálható savasságának és pH-jának meghatározása. 3. fejezet: A pH meghatározása. *Magyar Szabvány MSZ 3707:1981*. Magyar Szabványügyi Testület, Budapest.
211. Magyar Szabványügyi Testület (1999): Mikrobiológia – Általános útmutató élesztők és penészek számlálásához – Telepszámlálási technika 25°C-on. *Magyar Szabvány MSZ ISO 7954:1999*. Magyar Szabványügyi Testület, Budapest.
212. Magyar Szabványügyi Testület (2005): Élelmiszerek és takarmányok mikrobiológiája – Horizontális módszer a mezofil tejsavtermelő baktériumok megszámlálására – Telepszámlálási technika 30°C-on. *Magyar Szabvány MSZ ISO 15214:2005*. Magyar Szabványügyi Testület, Budapest.
213. Martin, M.L., Shipman, L.D., Potter, M.E., Wachsmuth, I.K., Wells, J.G., Hedberg, K., Tauxe, R.V., Davis, J.P., Arnoldi, J., Tilleli, J. (1986): Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from dairy cattle associated with two cases of haemolytic uraemic syndrome. *Lancet* **328** 1043–1043.
214. Mavric, E., Wittmann, S., Barth, G., Henle, T. (2008): Identification and quantification of methylglyoxal as the dominant antibacterial constituent of manuka (*Leptospermum scoparium*) honeys from New Zealand. *Molecular Nutrition and Food Research* **52** 483–489.
215. Mayer, H.K., Fiechter, G. (2012a): Physical and chemical characteristics of sheep and goat milk in Austria. *International Dairy Journal* **24** 57–63.

216. Mayer, H.K., Fiechter, G. (2012b): Physicochemical characteristics of goat's milk in Austria: seasonal variations and differences between six breeds. *Dairy Science and Technology* **92** 167–177.
217. Mayo, B., Ammor, M.S., Delgado, S., Alegría, Á. (2010): Fermented milk products. In: Tamang, J.P., Kailasapathy, K. (Eds), *Fermented Foods and Beverages of the World*. CRC Press, Boca Raton, FL. pp. 263–288.
218. McKinley, M.C. (2005): The nutrition and health benefits of yoghurt. *International Journal of Dairy Technology* **58** 1–12.
219. McLauchlin, J., Narayanan, G.L., Mithani, V., O'Neill, G. (2000): The detection of enterotoxins and toxic shock syndrome toxin genes in *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction. *Journal of Food Protection* **63** 479–488.
220. Medina, L.M., Jordano, R. (1995): Population dynamics of constitutive microbiota in BAT type fermented milk products. *Journal of Food Protection* **58** 70–76.
221. Mehrotra, M., Wang, G., Johnson, W.M. (2000): Multiplex PCR for detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1, and methicillin resistance. *Journal of Clinical Microbiology* **38** 1032–1035.
222. Metchnikoff, É. (1907): *The Prolongation of Life: Optimistic Studies*. Heinemann, London, UK. 343 pp.
223. Miranda, M.S., Cintra, R.G., Barros S.B.M., Filho, J.M. (1998): Antioxidant activity of the microalga *Spirulina maxima*. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **31** 1075–1079.
224. Mituniewicz-Małek, A., Ziarno, M., Dmytrów, I. (2014): Incorporation of inulin and transglutaminase in fermented goat milk containing probiotic bacteria. *Journal of Dairy Science* **97** 3332–3338.
225. Mocanu, G.D., Botez, E., Nistor, O.V., Andronoiu, D.G., Vlăsceanu, G. (2013): Influence of *Spirulina platensis* biomass over some starter culture of lactic bacteria. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies* **19** 474–479.
226. Mohammadi, R., Mortazavian, A.M. (2011): Technological aspects of prebiotics in probiotic fermented milks. *Food Reviews International* **27** 192–212.
227. Molan, P.C. (1992a): The antibacterial activity of honey: 1. The nature of the antibacterial activity. *Bee World* **73** 5–28.
228. Molan, P.C. (1992b): The antibacterial activity of honey: 2. Variation in the potency of the antibacterial activity. *Bee World* **73** 59–76.
229. Molnár, N., Gyenis, B., Varga, L. (2005): Influence of a powdered *Spirulina platensis* biomass on acid production of lactococci in milk. *Milchwissenschaft* **60** 380–382.
230. Monday, S.R., Bohach, G.A. (1999): Use of multiplex PCR to detect classical and newly described pyrogenic toxin genes in staphylococcal isolates. *Journal of Clinical Microbiology* **37** 3411–3414.
231. Monori, I. (2015): Small ruminant sector in Hungary. *Carrefour International Ovin–Caprin*. Oral presentation. Saint-Affrique, France, 8-9 April 2015.
232. Montville, T.J., Matthews, K.R. (2008): Factors that influence microbes in foods. In: Montville, T.J., Matthews, K.R. (Eds), *Food Microbiology: An Introduction*, 2nd ed. ASM Press, Washington, DC. pp. 11–38.

233. Morgan, F., Massouras, T., Barbosa, M., Roseiro, L., Ravasco, F., Kandarakis, I., Bonnin, V., Fistakoris, M., Anifantakis, E., Jaubert, G., Raynal-Ljutovac, K. (2003): Characteristics of goat milk collected from small and medium enterprises in Greece, Portugal and France. *Small Ruminant Research* **47** 39–49.
234. Möller, C., De Vrese, M. (2004): Review: probiotic effects of selected acid bacteria. *Milchwissenschaft* **59** 597–601.
235. Muehlherr, J.E., Zweifel, C., Corti, S., Blanco, J.E., Stephan, R. (2003): Microbiological quality of raw goat's and ewe's bulk-tank milk in Switzerland. *Journal of Dairy Science* **86** 3849–3856.
236. Muir, D.D., Kelly, M.E., Phillips, J.D. (1978): The effect of storage temperature on bacterial growth and lipolysis in raw milk. *International Journal of Dairy Technology* **31** 203–208.
237. Mundo, M.A., Padilla-Zakour, O.I., Worobo, R.W. (2004): Growth inhibition of foodborne pathogens and food spoilage organisms by select raw honeys. *International Journal of Food Microbiology* **97** 1–8.
238. Munro, G.L., Grieve, P.A., Kitchen, B.J. (1984): Effects of mastitis on milk yield, milk composition, processing properties and yield and quality of milk products. *Australian Journal of Dairy Technology* **39** 7–16.
239. Murinda, S.E., Nguyen, L.T., Ivey, S.J., Gillespie, B.E., Almeida, R.A., Draughon, F.A., Oliver, S.P. (2002): Prevalence and molecular characterization of *Escherichia coli* O157:H7 in bulk tank milk and fecal samples from cull cows: a 12-month survey of dairy farms in east Tennessee. *Journal of Food Protection* **65** 752–759.
240. Myllyluoma, E., Kajander, K., Saxelin, M. (2007): Functional dairy products for gastrointestinal infections and dysfunction. In: Saarela, M. (Ed.), *Functional Dairy Products*, Vol. 2. CRC Press and Woodhead Publishing, Boca Raton, FL and Cambridge, UK. pp. 63–89.
241. Nagy, D. (2012): Genetic testing of adult-type hypolactasia in present-day and ancient samples. *PhD Értekezés*. Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Szeged. 45 pp.
242. Nagy, D., Bogácsi-Szabó, E., Várkonyi, Á., Csányi, B., Czibula, Á., Bede, O., Tari, B., Raskó, I. (2009): Prevalence of adult-type hypolactasia as diagnosed with genetic and lactose hydrogen breath tests in Hungarians. *European Journal of Clinical Nutrition* **63** 909–912.
243. Nagy, B., Szmolka, A., Možina, S.S., Kovač, J., Strauss, A., Schlager, S., Beutlich, J., Appel, B., Lušicky, M., Aprikian, P., Pászti, J., Tóth, I., Kugler, R., Wagner, M. (2015): Virulence and antimicrobial resistance determinants of verotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) and of multidrug-resistant *E. coli* from foods of animal origin illegally imported to the EU by flight passengers. *International Journal of Food Microbiology* **209** 52–59.
244. Nighswonger, B.D., Brashears, M.M., Gilliland, S.E. (1996): Viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in fermented milk products during refrigerated storage. *Journal of Dairy Science* **79** 212–219.
245. Nikolić, N., Mirecki, S., Blagojević, M. (2011): Presence of inhibitory substances in raw milk in the area of Montenegro. *Mljekarstvo* **61** 182–187.
246. Niness, K.R. (1999): Inulin and oligofructose: what are they? *Journal of Nutrition* **129** 1402S–1406S.

247. Nobili, G., Franconieri, I., Basanisi, M.G., La Bella, G., Tozzoli, R., Caprioli, A., La Salandra, G. (2016): Isolation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in raw milk and mozzarella cheese in southern Italy. *Journal of Dairy Science* **99** 7877–7880.
248. Normanno, G., Firinu, A., Virgilio, S., Mula, G., Dambrosio, A., Poggio, A., Decastelli, L., Mioni, R., Scuota, S., Bolzoni, G., Di Giannatale, E., Salinetti, A.P., La Salandra, G., Bartoli, M., Zuccon, F., Pirino, T., Sias, S., Parisi, A., Quaglia, N.C., Celano, G.V. (2005): Coagulase-positive staphylococci and *Staphylococcus aureus* in food products marketed in Italy. *International Journal of Food Microbiology* **98** 73–79.
249. Normanno, G., La Salandra, G., Dambrosio, A., Quaglia, N.C., Corrente, M., Parisi, A., Santagada, G., Firinu, A., Crisetti, E., Celano, G.V. (2007): Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products. *International Journal of Food Microbiology* **115** 290–296.
250. Northolt, M.D. (1983): Pathogenic microorganisms in fermented dairy products. *Netherlands Milk and Dairy Journal* **37** 247–248.
251. Nuhu, A.A. (2013): *Spirulina (Arthrospira)*: an important source of nutritional and medicinal compounds. *Journal of Marine Biology* Article ID 325636, 8 pp.
252. Oliveira, C.J.B., Hisrich, E.R., Moura, J.F.P., Givisiez, P.E.N., Costa, R.G., Gebreyes, W.A. (2011): On farm risk factors associated with goat milk quality in Northeast Brazil. *Small Ruminant Research* **98** 64–69.
253. Oliver, S.P., Boor, K.J., Murphy, S.C., Murinda, S.E. (2009): Food safety hazards associated with consumption of raw milk. *Foodborne Pathogens and Disease* **6** 793–806.
254. Omoe, K., Imanishi, K., Hu, D.L., Kato, H., Takahashi-Omoe, H., Nakane, A., Uchiyama, T., Shinagawa, K. (2004): Biological properties of staphylococcal enterotoxin-like toxin type R. *Infection and Immunity* **72** 3664–3667.
255. Onishchenko, G.G., Dyatlov, I.A., Svetoch, E.A., Volozhantsev, N.V., Bannov, V.A., Kartsev, N.N., Borzenkov, V.N., Fursova, N.K., Shemyakin, I.G., Bogun, A.G., Kislichkina, A.A., Popova, A.V., Myakinina, V.P., Teimurazov, M.G., Polosenko, O.V., Kaftyreva, L.A., Makarova, M.A., Matveeva, Z.N., Grechaninova, T.A., Grigor'eva, N.S., Kicha, E.V., Zabalueva, G.V., Kutasova, T.B., Korzhaev, Yu.N., Bashketova, N.S., Bushmanova, O.N., Stalevskaya, A.V., Tchinjeria, I.G., Zhebrun, F.B. (2015): Molecular-genetic characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated during a food-borne outbreak in St. Petersburg in 2013. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences* **70** 70–81.
256. Ouwehand, A.C., Tiihonen, K., Mäkituokko, H., Rautonen, N. (2007): Synbiotics: combining the benefits of pre- and probiotics. In: Saarela, M. (Ed.), *Functional Dairy Products*, Vol. 2. CRC Press and Woodhead Publishing, Boca Raton, FL and Cambridge, UK. pp. 195–213.
257. Ozdemir, G., Dalay, M.C. (2008): *Spirulina* and antibacterial activity. In: Gershwin, M.E., Belay, A. (Eds), *Spirulina in Human Nutrition and Health*. CRC Press, Boca Raton, FL. pp. 243–269.
258. Ördög, V. (1998): Prokariota algák. In: Turcsányi, G. (Szerk.), *Mezőgazdasági Növénytan*. Mezőgazdasági Szaktudás Kiadó, Budapest. pp. 189–190.
259. Paape, M.J., Wiggans, G.R., Bannerman, D.D., Thomas, D.L., Sanders, A.H., Contreras, A., Moroni, P., Miller, R.H. (2007): Monitoring goat and sheep milk somatic cell counts. *Small Ruminant Research* **68** 114–125.

260. Pajor, F., Németh, Sz., Gulyás, L., Simó, K., Ferentzi, B. (2009): Legeltetett magyar parlagi kecskék tejének összetétele és egyes tulajdonságai. *Tejgazdaság* **69** (2), 3–8.
261. Pandey, K.R., Naik, S.R., Vakil, B.V. (2015): Probiotics, prebiotics and synbiotics: a review. *Journal of Food Science and Technology* **52** 7577–7587.
262. Pantoja, J.C.F., Reinemann, D.J., Ruegg, P.L. (2009): Associations among milk quality indicators in raw bulk milk. *Journal of Dairy Science* **92** 4978–4987.
263. Pantoja, J.C.F., Reinemann, D.J., Ruegg, P.L. (2011): Factors associated with coliform count in unpasteurized bulk milk. *Journal of Dairy Science* **94** 2680–2691.
264. Parada, J.L., De Caire, G.Z., De Mulé, M.C.Z., De Cano, M.M.S. (1998): Lactic acid bacteria growth promoters from *Spirulina platensis*. *International Journal of Food Microbiology* **45** 225–228.
265. Parisi, A., Caruso, M., Normanno, G., Latorre, L., Sottili, R., Miccolupo, A., Fraccalvieri, R., Santagada, G. (2016): Prevalence, antimicrobial susceptibility and molecular typing of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in bulk tank milk from southern Italy. *Food Microbiology* **58** 36–42.
266. Parker, R.B. (1974): Probiotics, the other half of the antibiotic story. *Animal Nutrition and Health* **29** 4–8.
267. Paseephol, T., Sherkat, F. (2009): Probiotic stability of yoghurts containing Jerusalem artichoke inulins during refrigerated storage. *Journal of Functional Foods* **1** 311–318.
268. Perez, K.J., Guarienti, C., Bertolin, T.E., Costa, J.A.V., Colla, L.M. (2007): Viabilidade de bactérias lácticas em iogurte adicionado de biomassa da microalga *Spirulina platensis* durante o armazenamento refrigerado. *Alimentos e Nutrição* **18** 77–82.
269. Perkins, N.R., Kelton, D.F., Hand, K.J., MacNaughton, G., Berke, O., Leslie, K.E. (2009): An analysis of the relationship between bulk tank milk quality and wash water quality on dairy farms in Ontario, Canada. *Journal of Dairy Science* **92** 3714–3722.
270. Perko, B. (2011): Microbiological quality of raw milk. *Mljekarstvo* **61** 114–124.
271. Perna, A., Intaglietta, I., Simonetti, A., Gambacorta, E. (2014): Antioxidant activity of yogurt made from milk characterized by different casein haplotypes and fortified with chestnut and sulla honeys. *Journal of Dairy Science* **97** 6662–6670.
272. Pexara, A., Solomakos, N., Sergelidis, D., Angelidis, A.S., Govaris, A. (2016): Occurrence and antibiotic resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in raw ovine and caprine milk in Greece. *Dairy Science and Technology* **96** 345–357.
273. Pinchuk, I.V., Beswick, E.J., Reyes, V.E. (2010): Staphylococcal enterotoxins. *Toxins* **2** 2177–2197.
274. Pitkälä, A., Haveri, M., Pyörälä, S., Myllys, V., Honkanen-Buzalski, T. (2004): Bovine mastitis in Finland 2001: prevalence, distribution of bacteria, and antimicrobial resistance. *Journal of Dairy Science* **87** 2433–2441.
275. Public Health Laboratory Service (PHLS) (1995a): Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from foods – Method 1. PHLS, London, UK.
276. Public Health Laboratory Service (PHLS) (1995b): Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from dairy products – Method 2. PHLS, London, UK.

277. Pulay, G. (1972): A tej és tejtermékek fontosabb mikroorganizmusai. In: Pulay, G. (Szerk.), *Tejgazdasági Mikrobiológia*. Agrártudományi Egyetem, Gödöllő. pp. 30–58.
278. Pulay, G., Krász, Á. (1980): A tejsavbaktérium tenyészetek életműködéséről különböző szárazanyagtartalmú tejekben. *Tejipar* **29** (3) 49–60.
279. Rajic-Savic, N., Katic, V., Velebit, B., Colovic, S. (2015): Characteristics of enterotoxigenic coagulase positive staphylococci isolated from bovine milk in cases of subclinical mastitis. *Procedia Food Science* **5** 250–253.
280. Ranadheera, C.S., Evans, C.A., Adams, M.C., Baines, S.K. (2012): Probiotic viability and physico-chemical and sensory properties of plain and stirred fruit yogurts made from goat's milk. *Food Chemistry* **135** 1411–1418.
281. Rašić, J.L., Kurmann, J.A. (1978): Microflora of yoghurt. In: Rašić, J.L., Kurmann, J.A. (Eds), *Yoghurt: Scientific Grounds, Technology, Manufacture and Preparations*. Technical Dairy Publishing House, Copenhagen, Denmark. pp. 17–45.
282. Raynal-Ljutovac, K., Gaborit, P., Lauret, A. (2005): The relationship between quality criteria of goat milk, its technological properties and the quality of the final products. *Small Ruminant Research* **60** 167–177.
283. Reinders, R.D., Barna, A., Lipman, L.J.A., Bijker, P.G.H. (2002): Comparison of the sensitivity of manual and automated immunomagnetic separation methods for detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 in milk. *Journal of Applied Microbiology* **92** 1015–1020.
284. Reuter, G. (1989): *Bifidobacterium* characteristics and classification. In: Boulevard, M.P. (Ed.), *Fermented Milks: Current Research (Les Laits Fermentés: Actualité de la Recherche)*. John Libbey Eurotext, Montrouge, France. pp. 49–58.
285. Revelli, G.R., Sbodio, O.A., Tercero, E.J., (2004): Recuento de bacterias totales en leche cruda de tambos que caracterizan la zona noroeste de Santa Fe y sur de Santiago del Estero. *Revista Argentina de Microbiología* **36** 145–149.
286. Riazi, A., Ziar, H. (2012): Effect of honey and starter culture on growth, acidification, sensory properties and bifidobacteria cell counts in fermented skimmed milk. *African Journal of Microbiology Research* **6** 486–498.
287. Riley, L.W., Remis, R.S., Helgerson, S.D., McGee, H.B., Wells, J.G., Davis, B.R., Hebert, R.J., Olcott, E.S., Johnson, L.M., Hargrett, N.T., Blake, P.A., Cohen, M.L. (1983): Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *New England Journal of Medicine* **308** 681–685.
288. Robinson, R.K. (1987): Survival of *Lactobacillus acidophilus* in fermented products. *South African Journal of Dairy Science* **19** 25–27.
289. Robinson, R.K. (2011a): Yogurt: types and manufacture. In: Fuquay, J.W., Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. (Eds), *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Vol. 2, 2nd ed. Academic Press and Elsevier, Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo. pp. 525–528.
290. Robinson, R.K. (2011b): Yogurt: role of starter culture. In: Fuquay, J.W., Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. (Eds), *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Vol. 2, 2nd ed. Academic Press and Elsevier, Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo. pp. 529–532.

291. Rola, J.G., Czubkowska, A., Korpysa-Dzirba, W., Osek, J. (2016): Occurrence of *Staphylococcus aureus* on farms with small scale production of raw milk cheeses in Poland. *Toxins* **8** (3) 62. 9 pp.
292. Rola, J.G., Korpysa-Dzirba, W., Czubkowska, A., Osek, J. (2015a): Prevalence of enterotoxin genes and antimicrobial resistance of coagulase-positive staphylococci recovered from raw cow milk. *Journal of Dairy Science* **98** 4273–4278.
293. Rola, J.G., Osek, J. (2015): Milk and milk products as a source of food-borne infections caused by *Escherichia coli*. *Medycyna Weterynaryjna* **71** 84–87.
294. Rola, J.G., Sosnowski, M., Ostrowska, M., Osek, J. (2015b): Prevalence and antimicrobial resistance of coagulase-positive staphylococci isolated from raw goat milk. *Small Ruminant Research* **123** 124–128.
295. Romy, C., Armesto, J., Ramirez, D., González, R., Ledon, N., García, I. (1998): Antioxidant and anti-inflammatory properties of c-phycocyanin from blue-green algae. *Inflammation Research* **47** 36–41.
296. Rosec, J.P., Gigaud, O. (2002): Staphylococcal enterotoxin genes of classical and new types detected by PCR in France. *International Journal of Food Microbiology* **77** 61–70.
297. Roumyan, N., Zapryanov, P., Kondareva, S. (1996): On some aspects of a new fermented milk product medina. *Biotechnology and Biotechnological Equipment* **10** (2-3) 86–89.
298. Routray, W., Mishra, H.N. (2011): Scientific and technical aspects of yogurt aroma and taste: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **10** 208–220.
299. Saarela, M., Lähteenmäki, L., Crittenden, R., Salminen, S., Mattila-Sandholm, T. (2002): Gut bacteria and health foods: the European perspective. *International Journal of Food Microbiology* **78** 99–117.
300. Saavedra, J.M., Bauman, N.A., Oung, I., Perman, J.A., Yolken, R.H. (1994): Feeding of *Bifidobacterium bifidum* and *Streptococcus thermophilus* to infants in hospital for prevention of diarrhoea and shedding of rotavirus. *Lancet* **344** 1046–1049.
301. Sachdeva, S., Jain, S., Rama, J., Agarwal, G.P. (2001): Use of microfiltration to obtain long shelf life milk. *Indian Journal of Dairy Science* **54** 297–304.
302. Sah, B.N.P., Vasiljevic, T., McKechnie, S., Donkor, O.N. (2016): Antibacterial and antiproliferative peptides in synbiotic yogurt: release and stability during refrigerated storage. *Journal of Dairy Science* **99** 4233–4242.
303. Saha, S. (2015): Honey – the natural sweetener becomes a promising alternative therapeutic: a review. *South Indian Journal of Biological Sciences* **1** 103–114.
304. Sako, T., Tanaka, R. (2011): Prebiotics: functions. In: Fuquay, J.W., Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. (Eds), *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Vol. 4, 2nd ed. Academic Press and Elsevier, Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo. pp. 365–371.
305. Salminen, S., Bouley, C., Boutron-Ruault, M.C., Cummings, J.H., Franck, A., Gibson, G.R., Isolauri, E., Moreau, M.C., Roberfroid, M., Rowland, I. (1998): Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *British Journal of Nutrition* **80** S147–S171.

306. Salque, M., Bogucki, P.I., Pyzel, J., Sobkowiak-Tabaka, I., Grygiel, R., Szmyt, M., Evershed, R.P. (2013): Earliest evidence for cheese making in the sixth millennium BC in northern Europe. *Nature* **493** 522–525.
307. Sancak, Y.C., Sancak, H., Isleyici, O., Durmaz, H. (2015): Presence of *Escherichia coli* O157 and O157:H7 in raw milk and Van herby cheese. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* **59** 511–514.
308. Sanders, M.E., Huis in't Veld, J. (1999): Bringing a probiotic-containing functional food to the market: microbiological, product, regulatory and labeling issues. *Antonie van Leeuwenhoek* **76** 293–315.
309. Santoyo, S., Herrero, M., Señoráns, F.J., Cifuentes, A., Ibáñez, E., Jaime, L. (2006): Functional characterization of pressurized liquid extracts from *Spirulina platensis*. *European Food Research and Technology* **224** 75–81.
310. Scardovi, V. (1986): Genus *Bifidobacterium*. In: Sneath, P.H.A, Mair, N.S., Sharpe, M.E., Holt, J.G. (Eds), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2. Williams and Wilkins, Baltimore, MD. pp. 1418–1434.
311. Scherer, S. (1995): Biologische Bekämpfung von Krankheitserregern in Lebensmitteln: Option oder Fiktion? *DMZ-Lebensmittelindustrie und Milchwirtschaft* **116** 432–442.
312. Scherrer, D., Corti, S., Muehlherr, J.E., Zweifel, C., Stephan, R. (2004): Phenotypic and genotypic characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates from raw bulk-tank milk samples of goats and sheep. *Veterinary Microbiology* **101** 101–107.
313. Schiffrin, E.J., Rochat, F., Link-Amster, H., Aeschlimann, J.M., Donnet-Hughes, A. (1995): Immunomodulation of human blood cells following the ingestion of lactic acid bacteria. *Journal of Dairy Science* **78** 491–497.
314. Scholz-Ahrens, K.E., Ade, P., Marten, B., Weber, P., Timm, W., Açil, Y., Glüer, C.C., Schrezenmeir, J. (2007): Prebiotics, probiotics, and synbiotics affect mineral absorption, bone mineral content, and bone structure. *Journal of Nutrition* **137** 838S–846S.
315. Schrezenmeir, J., De Vrese, M. (2001): Probiotics, prebiotics, and synbiotics – approaching a definition. *American Journal of Clinical Nutrition* **73** 361S–364S.
316. Scrimshaw, N.S., Murray, E.B. (1988): The acceptability of milk and milk products in populations with a high prevalence of lactose intolerance. *American Journal of Clinical Nutrition* **48** 1142–1159.
317. Sendra, E., Sayas-Barberá, M.E., Fernández-López, J., Pérez-Alvarez, J.A. (2016): Effect of food composition on probiotic bacteria viability. In: Watson, R.R., Preedy, V.R. (Eds), *Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics: Bioactive Foods in Health Promotion*. Academic Press and Elsevier, London, San Diego, Waltham, Oxford. pp. 257–269.
318. Sert, D., Akin, N., Dertli, E. (2011): Effects of sunflower honey on the physicochemical, microbiological and sensory characteristics in set type yoghurt during refrigerated storage. *International Journal of Dairy Technology* **64** 99–107.
319. Shah, N.P. (2000): Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal of Dairy Science* **83** 894–907.
320. Shah, N.P. (2011a): *Bifidobacterium* spp.: morphology and physiology. In: Fuquay, J.W., Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. (Eds), *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Vol. 1, 2nd ed. Academic Press and Elsevier, Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo. pp. 381–387.

321. Shah, N.P. (2011b): *Bifidobacterium* spp.: applications in fermented milks. In: Fuquay, J.W., Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. (Eds), *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Vol. 1, 2nd ed. Academic Press and Elsevier, Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo. pp. 388–394.
322. Shah, C., Mokashe, N., Mishra, V. (2016): Preparation, characterization and in vitro antioxidative potential of synbiotic fermented dairy products. *Journal of Food Science and Technology* **53** 1984–1992.
323. Shennan, S., Downey, S.S., Timpson, A., Edinborough, K., Colledge, S., Kerig, T., Manning, K., Thomas, M.G. (2013): Regional population collapse followed initial agriculture booms in mid-Holocene Europe. *Nature Communications* **4** 2486. 8 pp.
324. Shin, H.S., Lee, J.H., Pestka, J.J., Ustunol, Z. (2000): Growth and viability of commercial *Bifidobacterium* spp in skim milk containing oligosaccharides and inulin. *Journal of Food Science* **65** 884–887.
325. Shin, H.S., Ustunol, Z. (2005): Carbohydrate composition of honey from different floral sources and their influence on growth of selected intestinal bacteria: an in vitro comparison. *Food Research International* **38** 721–728.
326. Silanikove, N., Merin, U., Leitner, G. (2014): On effects of subclinical mastitis and stage of lactation on milk quality in goats. *Small Ruminant Research* **122** 76–82.
327. Simoons, F.J. (1969): Primary adult lactose intolerance and the milking habit: a problem in biological and cultural interrelations. I. Review of the medical research. *American Journal of Digestive Diseases* **14** 819–836.
328. Snowdon, J.A., Cliver, D.O. (1996): Microorganisms in honey. *International Journal of Food Microbiology* **31** 1–26.
329. Solomakos, N., Govaris, A., Angelidis, A.S., Pournaras, S., Burriel, A.R., Kritas, S.K., Papageorgiou, D.K. (2009): Occurrence, virulence genes and antibiotic resistance of *Escherichia coli* O157 isolated from raw bovine, caprine and ovine milk in Greece. *Food Microbiology* **26** 865–871.
330. Spanu, V., Spanu, C., Viridis, S., Cossu, F., Scarano, C., De Santis, E.P.L. (2012): Virulence factors and genetic variability of *Staphylococcus aureus* strains isolated from raw sheep's milk cheese. *International Journal of Food Microbiology* **153** 53–57.
331. Springer, M., Pulz, O., Szigeti, J., Ördög, V., Varga, L. (1998): Verfahren zur Herstellung von biologisch hochwertigen Sauermilcherzeugnissen. *European Patent* No. DE 19654614A1.
332. Stahl, T., Sallmann, H.P., Duehlmeier, R., Wernery, U. (2006): Selected vitamins and fatty acid patterns in dromedary milk and colostrum. *Journal of Camel Practice and Research* **13** 53–57.
333. Stephan, R., Buehler, K., Lutz, C. (2002): Prevalence of genes encoding enterotoxins, exfoliative toxins and toxic shock syndrome toxin 1 in *Staphylococcus aureus* strains isolated from bulk-tank milk samples in Switzerland. *Milchwissenschaft* **57** 502–504.
334. Stessl, B., Hein, I. (2010): Identifying pathogens milk. In: Griffiths, M.W. (Ed.), *Improving the Safety and Quality of Milk*, Vol. 1. CRC Press and Woodhead Publishing, Boca Raton, FL and Cambridge, UK. pp. 87–112.
335. Surono, I.S., Hosono, A. (2011): Fermented milks: types and standards of identity. In: Fuquay, J.W., Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. (Eds), *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Vol. 2, 2nd ed. Academic Press, London, UK. pp. 470–476.

336. Süle, J. (2016): Tejsavbaktériumok és bifidobaktériumok élősejt-számának szelektív meghatározására szolgáló módszerek összehasonlító értékelése és alkalmazása savanyú tejtermékek mikrobiológiai minőségének ellenőrzésére. *PhD Értekezés*. Széchenyi István Egyetem, Mezőgazdaság- és Élelmiszer-tudományi Kar, Mosonmagyaróvár. 174 pp.
337. Süle, J., Kőrösi, T., Hucker, A., Varga, L. (2014): Evaluation of culture media for selective enumeration of bifidobacteria and lactic acid bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology* **45** 1023–1030.
338. Süle, J., Varga, L. (2009): Méz hatása egy probiotikus savanyú tejtermék mikrobiotájának alakulására. *Tejgazdaság* **69** (1) 17–22.
339. Szakály, S. (2001): A tejipar alap-, adalék- és segédanyagai. In: Szakály, S. (Szerk.), *Tejgazdaságtan*. Dinasztia Kiadó, Budapest. pp. 135–141.
340. Szakály S. (2004): A probiotikumokkal kapcsolatos alapismeretek. In: Szakály, S. (Szerk.), *Probiotikumok és Humánegészség: Vissza a Természethez!* Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet, Mosonmagyaróvár. pp. 4–17.
341. Takano, T., Yamamoto, N. (2011): Health effects of fermented milks. In: Fuquay, J.W., Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. (Eds), *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Vol. 2, 2nd ed. Academic Press, London, UK. pp. 483–488.
342. Tamang, J.P., Shin, D.H., Jung, S.J., Chae, S.W. (2016): Functional properties of microorganisms in fermented foods. *Frontiers in Microbiology* **7** 578. 13 pp.
343. Tamime, A.Y., Marshall, V.M.E., Robinson, R.K. (1995): Microbiological and technological aspects of milks fermented by bifidobacteria. *Journal of Dairy Research* **62** 151–187.
344. Tamime, A.Y., Robinson, R.K. (2007a): Historical background. In: Tamime, A.Y., Robinson, R.K. (Eds), *Tamime and Robinson's Yoghurt – Science and Technology*, 3rd ed. CRC Press and Woodhead Publishing, Cambridge, UK and Boca Raton, FL. pp. 1–12.
345. Tamime, A.Y., Robinson, R.K. (2007b): Nutritional value of yoghurt. In: Tamime, A.Y., Robinson, R.K. (Eds), *Tamime and Robinson's Yoghurt – Science and Technology*, 3rd ed. CRC Press and Woodhead Publishing, Cambridge, UK and Boca Raton, FL. pp. 646–684.
346. Tamime, A.Y., Robinson, R.K. (2007c): Quality control in yoghurt manufacture. In: Tamime, A.Y., Robinson, R.K. (Eds), *Tamime and Robinson's Yoghurt – Science and Technology*, 3rd ed. CRC Press and Woodhead Publishing, Cambridge, UK and Boca Raton, FL. pp. 685–753.
347. Taormina, P.J., Niemira, B.A., Beuchat, L.R. (2001): Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. *International Journal of Food Microbiology* **69** 217–225.
348. Tarantino, L.M. (2003): *Agency Response Letter GRAS Notice No. GRN 000127*. United States Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Office of Food Additive Safety, Silver Spring, MD. <http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/NoticeInventory/ucm153944.htm>. Utolsó belépés: 2016. október 3.
349. Tarekgne, E.K., Skjerdal, T., Skeie, S., Rudi, K., Porcellato, D., Félix, B., Narvhus, J.A. (2016): Enterotoxin gene profile and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolates from bovine bulk milk and milk products of Tigray region, Northern Ethiopia. *Journal of Food Protection* **79** 1387–1395.

350. Tasci, F. (2011): Microbiological and chemical properties of raw milk consumed in Burdur. *Journal of Animal and Veterinary Advances* **10** 635–641.
351. Teshome, B., Tefera, G., Belete, B., Mekuria, A. (2016): Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of *Staphylococcus aureus* from raw camel and goat milk from Somali region of Ethiopia. *African Journal of Microbiology Research* **10** 1066–1071.
352. Tharmaraj, N., Shah, N.P. (2003): Selective enumeration of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, bifidobacteria, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, and propionibacteria. *Journal of Dairy Science* **86** 2288–2296.
353. Tirard-Collet, P., Zee, J.A., Carmichael, L., Simard, R.E. (1991): A study of the microbiological quality of goat milk in Quebec. *Journal of Food Protection* **54** 263–266.
354. Tishkoff, S.A., Reed, F.A., Ranciaro, A., Voight, B.F., Babbitt, C.C., Silverman, J.S., Powell, K., Mortensen, H.M., Hirbo, J.B., Osman, M., Ibrahim, M., Omar, S.A., Lema, G., Nyambo, T.B., Ghorri, J., Bumpstead, S., Pritchard, J.K., Wray, G.A., Deloukas, P. (2006): Convergent adaptation of human lactase persistence in Africa and Europe. *Nature Genetics* **39** 31–40.
355. Tomaselli, L. (1997): Morphology, ultrastructure and taxonomy of *Arthrospira* (*Spirulina*) *maxima* and *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis*. In: Vonshak, A. (Ed.), *Spirulina platensis* (*Arthrospira*): *Physiology, Cell-biology and Biotechnology*. Taylor and Francis, London, UK. pp. 1–15.
356. Tremonte, P., Tipaldi, L., Succi, M., Pannella, G., Falasca, L., Capilongo, V., Coppola, R., Sorrentino, E. (2014): Raw milk from vending machines: effects of boiling, microwave treatment, and refrigeration on microbiological quality. *Journal of Dairy Science* **97** 3314–3320.
357. Tresset, A., Vigne, J.D. (2007): Substitution of species, techniques and symbols at the Mesolithic-Neolithic transition in western Europe. In: Whittle, A., Cummings, V. (Eds), *Going Over: The Mesolithic-Neolithic Transition in the North-West Europe*. Oxford University Press, Oxford, UK. pp. 189–210.
358. Unger, A. (1996): A nyers tej korszerű minősítésének tudományos megalapozása, gyakorlati bevezetése és a minőség alakulása Magyarországon. *Doktori Értekezés*. Pannon Agrártudományi Egyetem, Mezőgazdaság-tudományi Kar, Mosonmagyaróvár. 150 pp.
359. Unger, A. (2001): A nyers tej minősége, minősítése és ára. In: Szakály, S. (Szerk.), *Tejgazdaságtan*. Dinasztia Kiadó, Budapest. pp. 115–129.
360. Unger, A., Császár, G. (2003): Tejminőség Magyarországon európai összehasonlításban. *Tejgazdaság* **63** (2) 156–167.
361. Unger, A., Császár, G. (2009): A korszerű nyerstejminősítés rendszere és a tej minősége Magyarországon. In: Kukovics, S. (Szerk.), *A Tej Szerepe a Humán Táplálkozásban*. Melánia Kiadó, Budapest. pp. 91–102.
362. United States Food and Drug Administration (US FDA) (1995): Isolation methods for enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 – Method C. *Bacteriological Analytical Manual*. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
363. Ustunol, Z., Gandhi, H. (2001): Growth and viability of commercial *Bifidobacterium* spp. in honey-sweetened skim milk. *Journal of Food Protection* **64** 1775–1779.

364. Varga, L. (1999): Effect of a cyanobacterial biomass enriched with trace elements on thermophilic dairy starter cultures. *PhD Értekezés*. Pannon Agrártudományi Egyetem, Mezőgazdaság-tudományi Kar, Mosonmagyaróvár. 148 pp.
365. Varga, L. (2001): A probiotikus savanyú tejkészítmények szerepe táplálkozásunkban. *Agrár Elit Magazin – Unikum* **1** (4) 20.
366. Varga, L. (2006): Effect of acacia (*Robinia pseudo-acacia* L.) honey on the characteristic microflora of yogurt during refrigerated storage. *International Journal of Food Microbiology* **108** 272–275.
367. Varga, L., Süle, J., Nagy, P. (2014): Survival of the characteristic microbiota in probiotic fermented camel, cow, goat, and sheep milks during refrigerated storage. *Journal of Dairy Science* **97** 2039–2044.
368. Varga, L., Szigeti, J. (1998): Microbial changes in natural and algal yoghurts during storage. *Acta Alimentaria* **27** 127–135.
369. Varga, L., Szigeti, J., Kovács, R., Földes, T., Buti, S. (2002): Influence of a *Spirulina platensis* biomass on the microflora of fermented ABT milks during storage. *Journal of Dairy Science* **85** 1031–1038.
370. Varga, L., Szigeti, J., Ördög, V. (1999): Effect of a *Spirulina platensis* biomass and that of its active components on single strains of dairy starter cultures. *Milchwissenschaft* **54** 187–190.
371. Vigne, J.D., Helmer, D. (2007): Was milk a “secondary product” in the Old World Neolithisation process? Its role in the domestication of cattle, sheep and goats. *Anthropozoologica* **42** (2) 9–40.
372. Villalobo, E. (2011): *Shigella* spp. In: Fuquay, J.W., Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. (Eds), *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Vol. 4, 2nd ed. Academic Press and Elsevier, Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo. pp. 99–103.
373. Vonshak, A. (1997a): Use of *Spirulina* biomass. In: Vonshak, A. (Ed.), *Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, Cell-biology and Biotechnology*. Taylor and Francis, London, UK. pp. 205–212.
374. Vonshak, A. (1997b): Appendices. In: Vonshak, A. (Ed.), *Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, Cell-biology and Biotechnology*. Taylor and Francis, London, UK. pp. 213–226.
375. Waage, S., Bjorland, J., Caugant, D.A., Oppegaard, H., Tollersrud, T., Mørk, T., Aarestrup, F.M. (2002): Spread of *Staphylococcus aureus* resistant to penicillin and tetracycline within and between dairy herds. *Epidemiology and Infection* **129** 193–202.
376. Wang, X., Wang, X., Wang, Y., Guo, G., Usman, T., Hao, D., Tang, X., Zhang, Y., Yu, Y. (2014): Antimicrobial resistance and toxin genes profiles of *Staphylococcus aureus* strains from Holstein milk. *Letters in Applied Microbiology* **58** 527–534.
377. Wang, Y.X., Zhao, P.F., Zhang, H.L., Chen, W.Y., Su, X.Y., Suo, B.A. (2013): A simple and rapid realtime PCR assay for the detection of *Shigella* and *Escherichia coli* species in raw milk. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit* **8** 313–319.
378. Weller, T.M.A. (2000): Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* typing methods: which should be the international standard? *Journal of Hospital Infection* **44** 160–172.
379. Weston, R.J., Mitchell, K.R., Allen, K.L. (1999): Antibacterial phenolic components of New Zealand manuka honey. *Food Chemistry* **64** 295–301.

380. White, E.C., Hinckley, L.S. (1999): Prevalence of mastitis pathogens in goat milk. *Small Ruminant Research* **33** 117–121.
381. White, J.W., Subers, M.H., Schepartz, A.I. (1963): The identification of inhibine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in a honey glucose-oxidase system. *Biochimica et Biophysica Acta* **73** 57–70.
382. Yamazi, A.K., Moreira, T.S., Cavicchioli, V.Q., Burin, R.C.K., Nero, L.A. (2013): Long cold storage influences the microbiological quality of raw goat milk. *Small Ruminant Research* **113** 205–210.
383. Zálán, Zs., Hudáček, J., Tóth-Markus, M., Husová, E., Solichová, K., Hegyi, F., Plocková, M., Chumchalová, J., Halász, A. (2011): Sensorically and antimicrobially active metabolite production of *Lactobacillus* strains on Jerusalem artichoke juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **91** 672–679.
384. Zeng, S.S., Escobar, E.N. (1995): Effect of parity and milk production on somatic cell count, standard plate count and composition of goat milk. *Small Ruminant Research* **17** 269–274.
385. Zeng, S.S., Escobar, E.N. (1996): Effect of breed and milking method on somatic cell count, standard plate count and composition of goat milk. *Small Ruminant Research* **19** 169–175.
386. Zeng, S.S., Escobar, E.N., Brown-Crowder, I. (1996): Evaluation of screening tests for detection of antibiotic residues in goat milk. *Small Ruminant Research* **21** 155–160.
387. Zhang, X.C., Xue, M.X. (2012): Spirulina industry in China: current status and prospects. *Biotechnology and Business* **2** (3) 48–54.
388. Zhu, W., Zeng, N., Wang, N. (2010): Sensitivity, specificity, accuracy, associated confidence interval and ROC analysis with practical SAS implementations. In: *Northeast SAS Users Group (NESUG) Proceedings 2010: Health Care and Life Sciences*. NESUG, Baltimore, MD. 9 pp.
389. Zickrick, K., Wegner, K., Schreiter, M. (1986): *Mikrobiologie tierischer Lebensmittel: eine Einführung*. VEB Fachbuchverlag, Leipzig, DDR. 547 pp.
390. Zschock, M., El Sayed, A.A.A., Hamann, H.P. (1998): Occurrence of verotoxin-forming *Escherichia coli* in cows suffering from mastitis. *Milchwissenschaft* **53** 307–309.
391. Zweifel, C., Muehlherr, J.E., Ring, M., Stephan, R. (2005): Influence of different factors in milk production on standard plate count of raw small ruminant's bulk-tank milk in Switzerland. *Small Ruminant Research* **58** 63–70.

8. AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁT KÉPEZŐ SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

1. Jancsó, A., Császár, G., **Varga, L.** (2014): A fogyasztóknak közvetlenül értékesített termelői nyers tehéntej egyes fizikai–kémiai és mikrobiológiai–higiéniai jellemzőinek vizsgálata. *Tejgazdaság* **74** 19–33.
Folyóirat impaktfaktora: – *Független hivatkozások száma: 0*
2. **Varga, L.** (2008): Kecsketej mikrobiológiai–higiéniai és fizikai–kémiai jellemzőinek alakulása a laktáció során, a fejéstől a hűtve tárolásig. *Tejgazdaság* **68** 83–91.
Folyóirat impaktfaktora: – *Független hivatkozások száma: 7*
3. Peles, F., Wagner, M., **Varga, L.**, Hein, I., Rieck, P., Gutser, K., Keresztúri, P., Kardos, G., Turcsányi, I., Béri, B., Szabó, A. (2007): Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine milk in Hungary. *International Journal of Food Microbiology* **118** 186–193.
Folyóirat impaktfaktora: 2,581 *Független hivatkozások száma: 121*
4. Hucker, A., Mike-Schummel, I., Unger, A., **Varga, L.** (2006): Evaluation of methods for detection of *Escherichia coli* O157:H7 in milk, and occurrence of *E. coli* O157:H7 in ex-farm raw milks in Hungary. *Milchwissenschaft* **61** 11–14.
Folyóirat impaktfaktora: 0,528 *Független hivatkozások száma: 4*
5. **Varga, L.**, Süle, J., Nagy, P. (2014): Survival of the characteristic microbiota in probiotic fermented camel, cow, goat, and sheep milks during refrigerated storage. *Journal of Dairy Science* **97** 2039–2044.
Folyóirat impaktfaktora: 2,573 *Független hivatkozások száma: 4*
6. **Varga, L.** (2006): Effect of acacia (*Robinia pseudo-acacia* L.) honey on the characteristic microflora of yogurt during refrigerated storage. *International Journal of Food Microbiology* **108** 272–275.
Folyóirat impaktfaktora: 2,608 *Független hivatkozások száma: 75*
7. **Varga, L.**, Süle, J., Nagy, P. (2014): Viability of culture organisms in honey-enriched acidophilus-bifidus-thermophilus (ABT)-type fermented camel milk. *Journal of Dairy Science* **97** 6814–6818.
Folyóirat impaktfaktora: 2,573 *Független hivatkozások száma: 2*
- 8.1. **Varga, L.**, Szigeti, J., Csengeri, É. (2003): Effect of oligofructose on the microflora of an ABT-type fermented milk during refrigerated storage. *Milchwissenschaft* **58** 55–58.
Folyóirat impaktfaktora: 0,436 *Független hivatkozások száma: 15*
- 8.2. **Varga, L.**, Szigeti, J., Gyenis, B. (2006): Influence of chicory inulin on the survival of microbiota of a probiotic fermented milk during refrigerated storage. *Annals of Microbiology* **56** 139–141.
Folyóirat impaktfaktora: 0,427 *Független hivatkozások száma: 11*

9. **Varga, L.**, Szigeti, J., Kovács, R., Földes, T., Buti, S. (2002): Influence of a *Spirulina platensis* biomass on the microflora of fermented ABT milks during storage. *Journal of Dairy Science* **85** 1031–1038.
Folyóirat impaktfaktora: 1,917 Független hivatkozások száma: 49

- 10.1. Molnár, N., Gyenis, B., **Varga, L.** (2005): Influence of a powdered *Spirulina platensis* biomass on acid production of lactococci in milk. *Milchwissenschaft* **60** 380–382.
Folyóirat impaktfaktora: 0,394 Független hivatkozások száma: 11

- 10.2. **Varga, L.**, Molnár-Ásványi, N., Szigeti, J. (2012): Manufacturing technology for a *Spirulina*-enriched mesophilic fermented milk. In: Neményi, M., Heil, B. (Eds), *The Impact of Urbanization, Industrial, Agricultural and Forest Technologies on the Natural Environment*. Nemzeti Tankönyvkiadó (National Textbook Publishing House), Budapest. pp. 251–261.
Független hivatkozások száma: 0

Kumulált impaktfaktor: 14,037 Független hivatkozások száma: 299

Teljes életműre:

Kumulált impaktfaktor: 33,553 Független hivatkozások száma: 608

Hirsch-index: 14

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Sokkal többeknek vagyok hálás eddigi szakmai–tudományos életutam alakulásában és doktori értekezésem létrejöttében betöltött közvetlen, vagy áttételes szerepükért, mint ahányakat módomban áll ehelyütt megemlíteni, a következő személyeknek (csoportoknak) azonban mindenképpen köszönettel tartozom:

- Prof. Dr. **Szigeti Jenő** és Dr. **Krász Ádám**, akikre mindenben számíthattam attól a pillanattól kezdve, hogy először beléptem a mosonmagyaróvári egyetemi kar kapuján. Szakmai és emberi szempontból egyaránt igazodási pontot jelentenek számomra mind a mai napig.
- Prof. Dr. **Faragó Sándor** és Prof. Dr. **Schmidt Rezső**, akik mellett rektorhelyettesként, ill. dékánhelyettesként semmivel nem pótolható vezetői tapasztalatokra tehettem szert.
- **Tanszéki munkatársaim** (a jelenlegi Élelmiszer-tudományi Tanszék mindenkori oktatói, dolgozói) és **szerzőtársaim** (Dr. Ásványi-Molnár Noémi†, Dr. Béri Béla, Buti Sándor, Császár Gábor, Csengeri Éva, Földes Tamás, Dr. Klaus Gutser, Gyenis Beáta, Dr. Ingeborg Hein, Hucker Attila, Dr. Jancsó András, Dr. Kardos Gábor, Dr. Keresztúri Péter, Dr. Nagy Péter, Dr. Peles Ferenc, Dr. Petra Rieck, Schummelné Mike Ilona, Dr. Süle Judit, Dr. Szabó András, Prof. Dr. Szigeti Jenő, Tihanyi-Kovács Renáta, Dr. Turcsányi Ibolya, Dr. Unger András, Prof. Dr. Martin Wagner), akik nélkül a töredékét sem tudtam volna elvégezni az itt bemutatott munkának.
- Legnagyobb hálám **feleségemet** (Vandát), **gyermekeimet** (Emmát és Leót), valamint **szüleimet** illeti türelmükért, támogatásukért és szeretetükért.

*“Ha a harang megkondul, és mindenki ujjong,
akkor az, aki öntötte, lehetőleg az emberek szemétől távol zokogjon,
amiért nem tökéletes a hangja,
mivelhogy nincs tökéletes harang.”*

Ancsel Éva