

Szárított fűszernövények mikrobás szennyezettségének vizsgálata

György Éva¹, Laslo Éva¹, András Csaba Dezső², György Elza-Márta³

Sapientia Erdélyi Magyar Tudományegyetem, ¹Műszaki és Természettudományi Tanszék, ²Élelmiszertudományi Tanszék, Csíkszereda,
³Dianthus Gyógyszertár, Marosszentgyörgy

Studiul contaminării microbiene a unor plante condimentare uscate

Condimentele vegetale sunt produse cu un conținut de substanțe aromate, uleiuri volatile și coloranți, având în general o activitate antimicrobiană. În contrast cu efectul antimicrobian al acestor substanțe, contaminarea condimentelor uscate poate reprezenta un real pericol de alterare al produselor alimentare și chiar de intoxicație alimentară. Contaminarea microbiană a plantelor condimentare este consecința condițiilor de cultivare (sau a creșterii), recoltării și procesării improprie a materialului vegetal. Dintre microorganismele alohtone posedă o importanță pronunțată bacteriile sporulate aerobe (*Bacillus*) și anaerobe (*Clostridium*), precum și micromicetele micotoxigene (*Aspergillus* sp.). În acest studiu, am examinat gradul de contaminare la patru specii de plante condimentare uscate (cimbrisor, chimion, cimbru și mărar) autohtone comercializate. Rezultatele arată, că gradul de contaminare reziduală (bacteriană și micotică) a fost semnificativ. Au fost detectate atât bacterii sporulate aerobe și anaerobe, bacterii anaerobe sulfito-reducătoare (*Clostridium perfringens*), cât și micromicete din genurile *Alternaria*, *Penicillium* și *Aspergillus* (chiar și câteva specii micotoxigene). Totodată am examinat și gradul de scădere al numărului de microorganisme în probele de condimente supuse unor procedee de decontaminare (spălare cu apă distilată și apă oxigenată, încălzire menajată, iradiere cu microunde și lumină ultravioletă).

Cuvinte cheie: condimente uscate, contaminare microbiană, bacterii sporulate, *Clostridium*, micromicete micotoxigene, decontaminare.

Study of microbial contamination of dried condiment plants

Spices are plant parts containing flavouring and odouring materials, which, in several cases, possess antimicrobial activity. In contrast with the antimicrobial efficiency of their chemical constituents, the microbial contamination of dried spices can represent a real hazard of food spoilage, and even food contamination. The microbial contamination is a consequence of the growing and improper processing conditions of spices. Out of the allochton microorganisms, which cause illnesses (infections and toxicoses) transmitted by spices through food-products, the sporogenic aerobic bacteria (*Bacillus*) and the anaerobic (*Clostridium*) bacteria have the main role, as well as the micotoxigenic micromicetes (*Aspergillus* sp.). In our study, the microbial contamination level of four commercially available, autohtonic dried spices were examined (thyme, caraway, savory and dill). The result shows, that the residual (bacterial and fungal) contamination of the products was significant. Aerobic and anaerobic sporogenic bacteria, anaerobic sulphite-reducing bacteria (*Clostridium perfringens*), and also micromicetes from *Alternaria*, *Penicillium* and *Aspergillus* genus (even some micotoxigenic species) were detected. At the same time, we examined the microbial destruction rates during various decontamination procedures (washing with water and hydrogen peroxide solution, mild heating, ultraviolet and microwave irradiation) applied on spice samples.

Keywords: dried spices, microbial contamination, sporogenic bacteria, *Clostridium*, micotoxigenic micromicetes, decontamination.

Orvostudományi Értesítő, 2009, 82 (2): 127-130

www.orvtudert.ro

Az élelmiszerekkel kapcsolatos betegségek rendkívül fontosak világszerte. Az élelmiszeranyagok szennyeződését okozhatják levegőből, talajból, vízből, székletből, személyi érintkezésből stb. származó mikroorganizmusok [8]. A legtöbb mikrobás eredetű élelmiszer-megbetegedés a gyomor- és bélrendszerben jelentkező heveny tünetekkel jár. Fertőzés esetén ezek a tünetek általában néhány nap alatt jelentkeznek, a kórokozótól és a gazdaszervezet állapotától függően. Az élelmiszer-mérgezés akut tünetei sokkal gyorsabban, órák alatt jelentkeznek. Számos baktériumos fertőzés ízületi gyulladással, veseműködés zavarával vagy más, komolyabb szervi tünetekkel jár [5].

Számos fűszernövény antimikrobás hatású fitoncidokat tartalmaz. A fűszerek kifejezett íze, illata miatt azonban csak olyan kis mennyiségben adhatók az élelmiszerekhez, hogy mikrobaellenes hatásuk nem számottevő. A fűszerek, bár általában szárítottanyagok, maradék mikrobaszáma igen jelentős és mind baktériumos, mind penészgombás szennyezettséget hordoznak. A szárítás folyamán elsősorban penészgombák szaporodnak el, köztük mikotoxintermelő fajok is [5].

A 37°C-on szaporodó baktériumok nagy száma valószínűsíti, hogy az esetleg kis számban jelenlevő kórokozók számára is kedvezők a szaporodás feltételei [10].

A fűszernövények által közvetített, élelmiszer okozta megbetegedéseket kiváltó allochton mikroorganizmusok közül jelentős szerep jut az aerob és az anaerob spórás baktériumoknak, valamint a mikroszkópikus penészgombáknak.

Az aerob spórás baktériumok csoportján belül, a *Bacillus* fajok között a legismertebb élelmiszer-ipari mérgezést okozó a *Bacillus cereus*. A szárított fűszernövények számos esetben jelentős *B. cereus* forrást képviselnek [12]. Az utóbbi években egyre gyakrabban fordulnak elő olyan ételmérgezések, amelyeket a *Bacillus licheniformis* és a *B. subtilis* okoz. A *Bacillus cereus* által okozott élelmiszer-mérgezéseknek két formája fordul elő, ami a két, különböző típusú toxinból adódik. Az egyik típusú élelmiszer-mérgezés hányással, valamint émelygéssel és hányással jár, ami az élelmiszer fogyasztását követően 1-5 órán belül alakul ki. A másik típus hasmenésszerű tüneteket okoz, inkubációs ideje 8-16 óra. Elsősorban olyan újramelegített, illetve felmelegített ételekben fordul elő, amelyekhez a főzés késői stádiumában paprikát, borsot vagy egyéb fűszereket adtak. Az ilyen fűszerek gyakran nagymértékben fertőzöttek *Bacillus*-spórákkal, amelyek ellenállóak a rövid idejű főzéssel szemben, és a kihűlés alatt csírázni kezdenek [1, 8].

A clostridiumok természetes előfordulási helye a talajon

György Éva

Sapientia EMTE, Műszaki és Természettudományi Tanszék

530104 Csíkszereda – Miercurea Ciuc

Szabadság tér 1.

e-mail: gyorgybeva@yahoo.com

kívül az állati és emberi bélcsatorna. A mikrobák a talajban spórát képezve túlélnek és visszakerülve az élőlények bélcsatornájába, széles körben elterjedhetnek. A fűszernövényekről főleg *Clostridium perfringens* törzseket izoláltak. A *Clostridium perfringens* okozta ételmérgezés főleg az A típus miatt jön létre azért, hogy nagyszámú életképes baktérium kerül a tápcsatornába, amelyek a bélcsatornában való spóraképzésük során enterotoxint termelnek, hasi fájdalmat és hasmenést okoznak, esetleg hányással és lázzal is társuló kórkép alakul ki. Általában a tipikus fertőzési ok a nagy mennyiségben előállított húskételekkel kapcsolatos (elkészítés, főzés, hűtés), amely lehetővé teszi a baktérium túlélését, a hőaktiválást és az ezt követő spórakicsírázást. Ezek lehetővé teszik, hogy a vegetatív sejtek száma az élelmiszerben 10^7 - 10^8 /g-ot is elérjen. Ritkán a *Clostridium perfringens* C típusának egyes törzsei súlyos bélelhalással járó kórképet (enteritis necrotisans) okozhatnak [3, 5, 8, 9].

Számos mikroszkópikus gomba olyan másodlagos anyagcseretermékeket (ergotoxinok, alkaloidok, aflatoxinok, sporofusarin, patulin, ochratoxin stb.) állít elő, amely mérgező az ember számára [8]. A mikotoxinok által kiváltott megbetegedések általában krónikus jellegűek, amelyek a mikotoxin huzamosabb fogyasztásának következményei, bár bizonyos esetekben akut tünetek is jelentkeznek. Az ember a mikotoxinokkal többnyire nem közvetlenül, hanem a növényi vagy állati táplálék szennyezettsége révén találkozik [5, 10]. A fűszernövényeken előforduló penészgombák általában az *Aspergillus*, *Eurotium*, *Emericella*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Curvularia*, *Cladosporium*, *Alternaria* és a *Paecilomyces* nemzetségekbe tartoznak [6]. A fűszernövényeknek mikotoxinokkal való szennyezettségének megelőzése szempontjából fontos a megfelelő termesztési, feldolgozási, csomagolási körülmények biztosítása, valamint a megfelelően ellenőrzött kezelési eljárások alkalmazása [13].

A kedvező mikrobiológiai hatékonysággal szemben a fűszerek mikrobás szennyezettsége jelentős romlást, sőt fertőzési forrást képez. A mikrobiális terheltség csökkentése szempontjából fontos megemlíteni a baktériumok endospóráinak rendkívüli ellenálló képességét a hővel és az ultraibolya sugárzással szemben. A penészgomba spórák ultraibolya sugárzással szembeni ellenálló képessége is igen jelentős, változó az egyes fajoknak megfelelően. A konídiumok pigmentáltsága is fokozza a rezisztenciát [2]. A mosás, kondicionálás nem csökkenti lényegesen a mikrobás szennyezettséget. Jelenleg a fűszerek mikrobaszám-csökkentésének egyik hatékony módszere az ionizáló sugárkezelés alkalmazása, megfelelően ellenőrzött körülmények mellett [1, 7].

Munkánk során a kereskedelemben forgalmazott néhány szárított fűszernövény mikrobiális terheltségét vizsgáltuk, ugyanakkor a hőhatás, az ultraibolya sugárzás, a lemosás és a mikrohullámú kezelés mikrobaszám csökkentő hatásának a mértékét tanulmányoztuk.

Anyag és módszer

A kereskedelemben forgalmazott, négyféle szárított fűszer-

növény: a kakukkfű, a kömény, a csombor és a kapor mikrobás szennyezettségét vizsgáltuk.

A mezofil aerob telepkepző baktériumok összcsíraszámát lemezöntéssel határoztuk meg Nutrient tápágaron, az inkubálás 37°C -on történt 48 óráig. Az aerob spórás baktériumok számának meghatározása esetén a növényi anyagból készített alapsuszpenziót előzőleg hőkezeltük vízfürdőben 15 percig 80°C -on. Ezt követően az alapsuszpenzióból és a megfelelő hígításokból lemezöntést végeztünk Nutrient táptalajra. Az inkubálás 28°C -on történt 48 óráig. Az anaerob spórás baktériumok kimutatása céljából a tenyésztés tioglikolátos táplevesben történt. A szulfit-redukáló anaerob baktériumok kimutatására *Clostridium* táplevest használtunk. A csoporthoz tartozó *Clostridium perfringens* jelenlétének bizonyítása céljából a megerősítő bakteriológiai módszereket alkalmaztuk.

A mikroszkópikus gombák kimutatását Czapek-Dox és Saboraud táptalajon végeztük szélesztéssel. Az inkubálás 5 napig tartott 30°C -on. A penészgombákat mikroszkópi preparátumok és telepmorfológiai tulajdonságok alapján azonosítottuk [4, 11].

A kakukkfű esetében vizsgáltuk a mikrobás szennyezettség csökkentésének lehetőségeit és annak mértékét az alkalmazott hatások következtében.

A hőhatás vizsgálata során steril üvegedénybe 1 g kakukkfűvet mértünk, melyre 250 ml felforralt vizet töltöttünk és 15 percig állni hagytuk.

Az ultraibolya sugárzás antimikrobás hatásának vizsgálata során a mintákat 15, 30, 60, 90 és 120 percig tartó kezelésnek tettük ki 254 nm hullámhosszon.

A mikrobás szennyezettség mértékének változását vizsgáltuk a növényi anyagnak steril vízzel, illetve hidrogén-peroxidral 5 percig történő megfelelő atmoszférát követően is.

A szárított kakukkfű mikrohullámmal történő kezelése 4 fokozaton (280, 420, 560, 700 W) történt, 1 illetve 5 perces időtartammal. A következő lépésben előzőleg steril desztillált vízzel, valamint hidrogén-peroxiddal átnedvesített kakukkfűvet kezeltünk mikrohullámmal a 4 fokozaton a megszáradásig (280 W – 180 s, 420 W – 140 s, 560 W – 120 s, 700 W – 90 s).

Minden egyes mikrobás szennyezettséget csökkentő hatás alkalmazását követően meghatároztuk a mezofil aerob telepkepző baktériumok összcsíraszámát, az aerob spórás baktériumok számát. Az anaerob spórás baktériumok, a szulfit-redukáló anaerob baktériumok valamint a penészgombák kimutatása tenyésztéses mikrobiológiai módszerekkel történt.

Eredmények

A mikrobiológiai vizsgálati eredmények alapján, a kiválasztott fűszernövények közül a kakukkfű bizonyult a leginkább szennyezettnek, mivel magas volt a mezofil aerob telepkepző baktériumok, valamint az aerob spórás baktériumok összcsíraszám (1. táblázat), ugyanakkor kimutathatók voltak az anaerob spórás baktériumok, a szulfit-redukáló anaerob

1. táblázat. A vizsgált szárított fűszernövények mikrobás szennyezettségének mértéke

Fűszernövény minta	Mezofil aerob baktériumok összcsíraszám (TKE/ml)	Aerob spórás baktériumok összcsíraszám (TKE/ml)	Penészgomba telepszám
kakukkfű	$4,24 \cdot 10^3$	$2,4 \cdot 10^3$	12
kömény	$6,2 \cdot 10^3$	0	0
csombor	$3 \cdot 10$	$2 \cdot 10$	0
kapor	$3,2 \cdot 10^2$	$2 \cdot 10$	0

baktériumok és a mikroszkópikus penészgombák. Az anaerob spórás baktériumok mind a négy fűszernövény esetében kitenyészthetők tioglikolátos táplevesben. A *Clostridium perfringens* csak a kakukkfű mintákból volt kimutatható. A kakukkfű esetében kitenyésztt penészgombák az *Aspergillus* (*Aspergillus versicolor*, *A. niger*), az *Alternaria* (*Alternaria alternata*), *Penicillium* (*Penicillium citrinum*) és a *Cladosporium* (*Cladosporium sphaerospermum*) nemzetségekbe tartoznak. Egészségvédelmi szempontból fontos kiemelni, hogy a meghatározott *Aspergillus*, *Alternaria* és *Penicillium* fajok mikotoxintermelő penészgombák.

A kakukkfű esetében alkalmazott hőhatás-vizsgálat eredményei alapján, a mezofil aerob telepképző baktériumok összcsíraszámát nagymértékben lecsökkent (9 TKE/ml), a mikroszkópikus penészgombák a spórák károsodása következtében nem fejlődtek ki Czapek-Dox és Saboraud táptalajon. Az anaerob spórás baktériumok továbbra is szaporodtak és gázt termeltek tioglikolátos táplevesben, valamint a *Clostridium perfringens* is kimutatható volt.

Az ultraibolya sugárzás hatásának vizsgálati eredményei alapján, a kezelési időtartam növelésének megfelelően fokozatos sejtszám csökkenés figyelhető meg a mezofil aerob baktériumok, az aerob spórás baktériumok és a penészgombák esetében (2. táblázat). 90 percig tartó kezelést követően a penészgombák, míg 120 percig tartó hatás esetében az aerob spórás baktériumok már nem mutathatók ki. Az anaerob spórás baktériumok és a *Clostridium perfringens* 60 percig tartó kezelésig még kitenyészthetőek, ennél nagyobb kezelési időtartamnál már nem. A penészgombák 90 perces hatást követően már nem fejlődtek ki szelektív táptalajon.

Abban az esetben ha a szárított kakukkfűvet előzőleg

2. táblázat. Az ultraibolya sugárzás mikrobaszám-csökkentő hatásának eredményei

A kezelési időtartam	Mezofil aerob baktériumok összcsíraszám (TKE/ml)	Aerob spórás baktériumok összcsíraszám (TKE/ml)	Penészgomba telepszám
15 perc	$2,25 \cdot 10^2$	$1,4 \cdot 10^2$	7
30 perc	$2,75 \cdot 10^2$	$1,5 \cdot 10^2$	6
60 perc	$2,56 \cdot 10^2$	$2,2 \cdot 10^2$	5
90 perc	$1,18 \cdot 10^2$	$3,2 \cdot 10$	0
120 perc	$6,8 \cdot 10$	0	0

átmoszuk steril desztillált vízzel nagymértékben csökken a mezofil aerob baktériumok és az aerob spórás baktériumok összcsíraszám. Az anaerob spórás baktériumok kitenyészthetők tioglikolátos táplevesben. Ha az atmoszféra oxigénes vízzel történik az általunk vizsgált mikroorganizmusok nem mutathatók ki a kakukkfű mintákból (3. táblázat). A penészgombák száma csak oxigénes vízzel történő atmoszféra következtében csökken jelentős mértékben.

A mikrohullámmal történő kezelés során kapott eredmények alapján az 1 és 5 perces időtartamok esetén, kimutatható csíraszám csökkenés a mezofil aerob baktériumok és az aerob spórás baktériumoknál, az eredeti csíraszámhoz viszonyítva, de a két különböző ideig tartó kezelés eredményei között nincsenek lényeges különbségek (4. táblázat). Az anaerob spórás baktériumok és a *Clostridium perfringens* 1 percig tartó kezelés után kitenyészthetők, 5 perc esetén pedig az anaerob spórás baktériumok csak a 280 W kezelés után életképesek, a *Clostridium perfringens* spórák csak a 700 W alkalmazása során nem csíráképesek. A penészgombák száma 1 perces kezelés hatására nem változik, míg 5 perc után a felére csökken.

Ha mikrohullámú kezelést megelőzi a kakukkfű atmoszféra steril desztillált vízzel vagy hidrogén-peroxiddal az anaerob spórás baktériumok és a szulfid-redukáló anaerob baktériumok nem életképesek, kivételt képez a 280 W-on 180 s-ig tartó kezelés amikor még kimutatható *Clostridium perfringens*. A mezofil aerob telepképző baktériumok összcsíraszámát csökken az eredeti sejtszámhoz viszonyítva. Az anaerob spórás baktériumok nem fejlődtek ki a hidrogén-peroxiddal történő kezelés esetén (5. táblázat). Ha a mikrohullámú kezelést atmoszféra is társítjuk a penészgombák spórái inaktíválódnak.

3. táblázat. A lemosás hatása a kakukkfű mikrobaszám változására

A lemosáshoz használt folyadék	Mezofil aerob baktériumok összcsíraszám (TKE/ml)	Aerob spórás baktériumok összcsíraszám (TKE/ml)	Penészgomba telepszám
steril desztillált víz	102	31	11
3%-os hidrogén-peroxid	0	0	1

4. táblázat. A mikrohullámú kezelés hatásának eredményei

A kezelési időtartam	Mezofil aerob baktériumok összcsíraszám (TKE/ml)				Aerob spórás baktériumok összcsíraszám (TKE/ml)			
	280 W	420 W	560 W	700 W	280 W	420 W	560 W	700 W
1 perc	1,44 · 10 ²	2,3 · 10	1,24 · 10 ²	3,6 · 10	6 · 10	5 · 10	1,9 · 10 ²	6,5 · 10
5 perc	1,04 · 10 ²	3,3 · 10	7 · 10	4,2 · 10	1,3 · 10 ²	2 · 10	1,1 · 10 ²	4 · 10

5. táblázat. Mikrobaszám változás átmosott kakukkfű mikrohullámú kezelése esetén

Az átnedvesítés-hez használt folyadék	Mezofil aerob baktériumok összcsíraszám (TKE/ml)				Aerob spórás baktériumok összcsíraszám (TKE/ml)			
	280	420	560	700	280	420	560	700
	W	W	W	W	W	W	W	W
	180	140	120	90	180	140	120	90
	s	s	s	s	s	s	s	s
steril desztillált víz	2,41	1,12	7,2	1,18	1,68	1,64	3,8	3,3

	10 ²	10 ²	10	10 ²	10 ²	10 ²	10	10
3%-os hidrogén-peroxid	4	1,1	1,6	1,2	0	0	10	0

	10	10 ²	10 ²	10 ²				

Következtetések

A vizsgált fűszernövények közül a kakukkfű minősége mikrobiológiai szempontból kifogásolható, jelentős mikrobás szennyezettség volt kimutatható.

A forrázat készítés mikrobaszám-csökkentő hatása a mezofil aerob baktériumok, az aerob spóráképző baktériumok és a penészgombák esetében érvényesül.

Az ultraibolya sugárzás hatására a kezelési időtartam növelésével fokozatos mikrobaszám csökkenés tapasztalható a vizsgált mikroorganizmusok esetében.

A steril desztillált víz használata a kakukkfű lemosására jelentős baktérium csíraszám csökkenést eredményezett. Az oxigén víz használata a mikroorganizmusok pusztulását váltotta ki.

A mikrohullámmal történő kezelés az anaerob spórás baktériumok és a penészgombák esetében hatékonyabb, ha előzőleg a fűszernövényt átnedvesítettük steril desztillált vízzel vagy hidrogén-peroxiddal.

A vizsgált mikroorganizmusok ellenálló képessége az

alkalmazott mikrobaszám-csökkentő hatásokkal szemben igen változó.

A szennyezett szárított fűszernövények leginkább akkor lehetnek káros hatással egészségvédelmi szempontból ha az élelmiszert amihez adagolják utóbb semmiféle kezelésnek nem teszik ki (például felmelegítés, forralás, mikrohullám).

Irodalom

1. Adams M.R., Moss M.O. – *Food Microbiology*, RSC Publishing, Cambridge, 2008, 85-90, 185-190.
2. Begum M., Hocking A.D., Miskelly D. – *Inactivation of food spoilage fungi by ultra violet (UVC) irradiation*, International Journal of Food Microbiology, 2009, 129: 74-77.
3. Béládi I., Nász I. (szerk) – *Orvosi mikrobiológia*, Semmelweis Kiadó, Budapest, 1997, 113-115.
4. Corry J.E.L., Curtis G.D.W., Baird R.M. – *Handbook of culture media for food Microbiology*, Elsevier, Amsterdam, 2003, 49-58, 369-380.
5. Deák T. (szerk) – *Élelmiszer-mikrobiológia*, Mezőgazda Kiadó, Budapest, 2006, 123- 124, 282-284.
6. Dijksterhuis J., Samson R.A – *Food Mycology*, CRC Press, New York, 2007, 135-151, 199-218.
7. Farkas J. – *Irradiation for better foods*, Trends in Food Science & Technology, 2006, 17:148-152.
8. Harrigan W.F., Park R.W.A. – *Biztonságos élelmiszerek előállítása*, Mezőgazda Kiadó, Budapest, 1994, 31-47.
9. Jay J.M., Loessner M.J., Golden D.A. – *Modern Food Microbiology*, Springer, New York, 2005, 568-573.
10. Kertai P. – *Közegészségtan*, Medicina Könyvkiadó, Budapest, 1982, 589-597.
11. Mănescu S. – *Microbiologie sanitară*, Editura Medicală, București, 1989, 85-88, 206-215.
12. Sagoo S.K., Little C.L., Greenwood M. et al. – *Assessment of the microbiological safety of dried spices and herbs from production and retail premises in the United Kingdom*, Food Microbiology, 2009, 26: 39-43.
13. Santos L., Marin S., Sanchis V. et al. – *Capsicum and micotoxin contamination: state of the art in a global context*, Food Science and Technology International, 2008, 14: 5-20.