

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Gregor CERAR

**PREŽIVETJE BAKTERIJ VRSTE *Salmonella*
enterica V KUHANIH JAJCIH**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

Ljubljana, 2007

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije. Opravljeno je bilo v laboratoriju Katedre za živilsko mikrobiologijo na Oddelku za živilstvo na Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani.

Študijska komisija Oddelka za živilstvo je za mentorico diplomskega dela imenovala doc. dr. Barbaro Jeršek in za recenzentko prof. dr. Terezijo Golob

Mentorica: doc. dr. Barbara Jeršek

Recenzentka: prof. dr. Terezija Golob

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Gregor Cerar

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD DN
DK UDK 637.4: 641.51.06: 579.67(043)=863
KD mikroorganizmi/*Salmonella enterica*/preživelost salmonel/jajca/starost
jajc/velikost jajc /kuhanje jajc/središčna temperatura jajc/čas kuhanja jajc
AV CERAR, Gregor
SA JERŠEK, Barbara (mentorica) / GOLOB, Terezija (recenzentka)
KZ SI-1000 LJUBLJANA, Jamnikarjeva 101
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
LI 2007
IN PREŽIVETJE BAKTERIJ VRSTE *Salmonella enterica* V KUHANIH
JAJCIH
TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP IX, 53 str., 13 pregl., 11 sl., 46 vir.
IJ sl
JI sl / en

AI Namen našega dela je bil določiti preživetje bakterij vrste *Salmonella enterica* v jajcih kuhanih v aparatu Zlato jajce. V prvem delu smo določili parametre segrevanja jajc velikosti S, M, L in XL tako, da smo jajca segrevali ob sočasnem segrevanju vode do središčne temperature jajc (T_s) 60 °C. Segrevanje jajc smo začeli enkrat pri sobni temperaturi jajc in drugič pri temperaturi hladilnika. V drugem delu smo segrevali jajca različnih velikosti do T_s 64 °C pri konstantni temperaturi vode 70 °C. V tem delu smo eksperiment ponovili pri štirih starostih jajc (12, 19, 27 in 34 dni). Glede na meritve T_s in temperatur vode (T_v), ki so bile določene vsako sekundo, smo ugotovili, da je povprečni koeficient prenosa toplote jajca (k) pri segrevanju jajc do T_s 60 °C neodvisen od velikosti jajc in od začetne temperature jajc pri sočasnem segrevanju jajc in vode. Vrednost k pri segrevanju jajc do T_s 64 °C je bila neodvisna od velikosti jajc (S, M, L, XL) za jajca stara do 12 dni in za jajca starejša od 28 dni pri konstantni T_v . Povprečna vrednost k jajc pri segrevanju jajc do T_s 64 °C je bila neodvisna od starosti jajc (12-34 dni) za jajca velikosti S. Koeficient prenosa toplote jajc je bil večji (0,008 s⁻¹) za jajca, ki smo jih segrevali ob konstantni temperaturi vode v primerjavi z jajci, ki smo jih segrevali istočasno z vodo (0,002 s⁻¹). V nadaljevanju eksperimenta smo zato določili preživelost bakterij seva *S. Enteritidis* pri segrevanju umetno kontaminiranih jajc do T_s 60 ° in 64 °C po različnih časih zadrževanja jajc na T_s (0, 10 in 60 minut). V vzorcih umetno kontaminiranih jajc pred kuhanjem, med kuhanjem in po določenem času kuhanja pri določeni T_s smo salmonele določili v 10 g vzorca. Ugotovili smo, da je preživetje salmonel v jajcih, ki smo jih segrevali sočasno s segrevanjem vode do T_s 60 °C odvisno od starosti in velikosti jajc, ter od začetne koncentracije salmonel, ter da je preživetje salmonel v jajcih, segretil pri konstantni T_v (70 °C) do T_s 64 °C, odvisno od starosti jajc in časa zadrževanja jajc na tej temperaturi.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN DN
DC UDC 637.4: 641.51.06: 579.67(043)=863
CX microorganisms/ *Salmonella enterica*/survival of /eggs/egg age/egg size/egg cooking/center egg temperature/cooking time
AU CERAR, Gregor
AA JERŠEK, Barbara (supervisor) / GOLOB, Terezija (reviewer)
PP SI-1000 LJUBLJANA, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology
PY 2007
TI SURVIVAL OF *Salmonella enterica* IN COOKED EGGS
DT Graduation Thesis (University studies)
NO IX, 53 p., 13 tab., 11 fig, 46 ref.
LA sl
AL sl/en

AB The purpose of our research was to determine the survival of bacteria *Salmonella enterica* in eggs cooked in Golden egg apparatus. The first part of our research was to determine heating parameters of different sized eggs S, M, L and XL. Eggs were heated in parallel with water heating until the temperature in the yolk (T_s) reached 60 °C. These measuring processes were done starting with eggs at room temperature and at refrigeration temperature. In the second part of experiments eggs of different sizes were heated at constant water temperature (T_v 70 °C) until T_s reached 64 °C. We repeated these experiments for four different ages of eggs (12, 19, 27, 34 days). According to measurements of T_s and T_v , made each second, heat transfer coefficients (k) of eggs were calculated. Size of eggs and starting temperature (room or refrigerator temperature) had no significant effect on heat transfer coefficients determined for eggs heated in parallel with water heating. The value of heat transfer coefficient for eggs heated to T_s 64 °C was not in correlation with an egg age for eggs size S and 12-34 days old. Heat transfer coefficient of eggs was higher ($0,008 \text{ s}^{-1}$) for eggs which were heated with water at constant temperature compared to eggs heated in parallel with water heating ($0,002 \text{ s}^{-1}$). In the next part of experimental work we determined the survival of *S. Enteritidis* in artificially contaminated eggs that were heated to T_s 60 ° and 64 °C at different holding times (0, 10 minutes, 60 minutes). In samples of artificially contaminated eggs at selected time of cooking at selected T_s we determined the presence of *Salmonella* in 10 g of sample. We concluded that the survival of bacteria in eggs heated up to T_s 60 ° in parallel with water heating depended on egg size, age and starting concentration of bacteria, furthermore the survival of bacteria in eggs heated up to T_s 64 °C using constant temperature of water (T_v 70 °C) depended on oldness of eggs and holding time on 64 °C.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA.....	II
KEY WORDS DOCUMENTATION.....	III
KAZALO VSEBINE.....	IV
KAZALO PREGLEDNIC.....	VI
KAZALO SLIK.....	VII
SEZNAM OKRAJŠAV	VIII

1 UVOD.....	1
1.1 NAMEN NALOGE	2
1.2 DELOVNE HIPOTEZE.....	2
2 PREGLED OBJAV.....	3
2.1 BAKTERIJE RODU <i>Salmonella</i>	3
2.1.1 Splošne lastnosti.....	3
2.1.2 Klasifikacija	3
2.1.3 Razširjenost in načini prenosa	4
2.1.3.1 Salmoneloza.....	4
2.1.4 Toplotna odpornost bakterij rodu <i>Salmonella</i>	5
2.2 LASTNOSTI JAJC	6
2.2.1 Zgradba jajca.....	7
2.2.3 Funkcionalne lastnosti jajc.....	9
2.2.3.1 Spremembe v jajcih med kuhanjem.....	10
2.3 PASTERIZACIJA JAJC V LUPINI.....	11
2.3.1 Postopki obdelave jajc v lupini	11
2.3.1.1 Pasterizacija jajc v lupini	12
2.3.1.2 Ultra-pasterizacija jajc v lupini	12
2.3.1.3 Vpliv toplotne obdelave jajc na preživelost bakterij rodu <i>Salmonella</i>	12
2.3.1.4 Toplotna obdelava jajc v aparatu Pollux.....	14
3 MATERIAL IN METODEDE	15
3.1 MATERIAL.....	15
3.1.1 Bakterijski sev.....	15
3.1.2 Mikrobiološka gojišča.....	15
3.1.3 Živilo.....	15
3.1.4 Druge kemikalije.....	15
3.1.5 Laboratorijska oprema	15
3.1.6 Aparat Zlato jajce.....	16
3.2 METODEDE.....	16
3.2.1 Potek eksperimenta	16
3.2.2 Priprava 24-urne bakterijske kulture seva <i>S. Enteritidis</i> ŽM351	19
3.2.3 Določitev bakterij seva <i>S. Enteritidis</i> ŽM351	19
3.2.3.1 Kvantitativna določitev bakterij seva <i>S. Enteritidis</i> ŽM351	19
3.2.3.2 Kvalitativna določitev bakterij seva <i>S. Enteritidis</i> ŽM351	20
3.2.4 Kontaminacija jajc v lupini s 24-urno kulturo seva <i>S. Enteritidis</i> ŽM351	20

3.2.5 Aparat Zlato jajce.....	21
3.2.5.1 Opis aparata Zlato jajce	21
3.2.5.2 Kuhanje jajc v aparatu Zlato jajce	24
3.2.6 Meritve središčne temperature jajca in temperature vode med segrevanjem jajc v aparatu Zlato jajce	25
3.2.7 Določitev in primerjava temperaturnih parametrov segrevanja jajc	26
4 REZULTATI.....	29
4.1 SPREMLJANJE SEGREVANJA JAJC DO T_s 60 °C PRI SOČASNEM SEGREVANJU VODE.....	29
4.1.1 Spremljanje segrevanja jajc od začetne sobne temperature.....	29
4.1.2 Spremljanje segrevanja jajc od začetne temperature hladilnika	32
4.2 SPREMLJANJE SEGREVANJA JAJC DO T_s 64 °C PRI KONSTANTNI TEMPERATURI VODE	35
4.2.1 Spremljanje segrevanja jajc od začetne temperature hladilnika	35
4.3 PREŽIVELOST BAKTERIJ SEVA <i>S. Enteritidis</i> PRI SEGREVANJU JAJC VELIKOSTI XL in M.....	41
4.3.1 Preživelost bakterij seva <i>S. Enteritidis</i> pri segrevanju jajc do središčne temperature 60 °C pri sočasnem segrevanju vode	41
4.3.2 Preživelost bakterij seva <i>S. Enteritidis</i> pri segrevanju jajc do T_s 64 °C pri konstantni temperaturi vode.....	43
4.4 VPLIV STAROSTI NA MASO JAJC.....	44
5 RAZPRAVA IN SKLEPI.....	45
5.1 RAZPRAVA.....	45
5.1.1 Temperaturni parametri segrevanja jajc.....	45
5.1.2 Preživetje bakterij seva <i>Salmonella</i> Enteritidis v kuhanih jajc.....	46
5.1.2.1 Vpliv središčne temperature jajc in vpliv časa segrevanja na preživetje bakterij seva <i>S. Enteritidis</i>	46
5.1.2.2 Vpliv starosti jajc na preživetje bakterij seva <i>S. Enteritidis</i>	47
5.2 SKLEPI.....	48
6 POVZETEK	49
7 VIRI.....	50
ZAHVALA	

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Segrevanje jajc velikosti S, M, L in XL od sobne temperature do T_s 60 °C pri sočasnem segrevanju vode	31
Preglednica 2: Vpliv velikosti jajc na povprečno vrednost k pri segrevanju jajc od sobne temperature do T_s 60 °C pri sočasnem segrevanju vode in jajc	32
Preglednica 3: Segrevanje jajc velikosti S, M, L in XL od temperature hladilnika do T_s 60 °C pri sočasnem segrevanju vode	34
Preglednica 4: Vpliv velikosti jajc na vrednost k pri segrevanju jajc od T hladilnika do T_s 60 °C pri sočasnem segrevanju vode in jajc	34
Preglednica 5: Vpliv začetne temperature jajca (sobna temperatura in temperatura hladilnika) na vrednost k pri sočasnem segrevanju vode in jajc do T_s 60 °C.....	35
Preglednica 6: Segrevanje jajc velikosti S, M, L in XL starih 12 in 19 dni od temperature hladilnika do T_s 64 °C pri konstantni temperaturi vode 70 °C.....	37
Preglednica 7: Segrevanje jajc velikosti S, M, L in XL starih 27 in 34 dni od temperature hladilnika do T_s 64 °C pri konstantni temperaturi vode 70 °C.....	38
Preglednica 8: Vpliv velikosti in starosti jajc na vrednost k pri segrevanju jajc do T_s 64 °C pri konstantni temperaturi vode 70 °C	39
Preglednica 9: Vpliv načina segrevanja na povprečno vrednost koeficienta prenosa toplote	40
Preglednica 10: Preživelost bakterij seva <i>S. Enteritidis</i> v jajcih velikosti XL pri sočasnem segrevanju vode in jajc do T_s 60 °C	42
Preglednica 11: Preživelost bakterij seva <i>S. Enteritidis</i> v jajcih velikosti M pri sočasnem segrevanju vode in jajc do T_s 60 °C	43
Preglednica 12: Preživelost bakterij seva <i>S. Enteritidis</i> v jajcih velikosti XL pri T_s 64 °C pri konstantni temperaturi vode 70 °C	43
Preglednica 13: Masa (m) in zmanjšanje mase (zm) jajc velikosti XL med 28 dnevnim skladiščenjem v hladilniku pri 5 °C	44

KAZALO SLIK

Slika 1:	Zgradba jajca (Holcman in sod., 2004: 99).....	7
Slika 2:	Shema eksperimentalnega dela določitve temperaturnih parametrov segrevanja jajc različnih velikosti do T_s 60 ° oziroma 64 °C v aparatu Zlato jajce pri sočasnem segrevanju vode (A) in pri konstantni temperaturi vode (B)	17
Slika 3:	Shema eksperimentalnega dela določitve preživelosti bakterij seva <i>S. Enteritidis</i> v različno starih jajcih velikosti XL in M do T_s 60 ° oz. 64 °C v aparatu Zlato jajce.....	18
Slika 4:	Aparat za kuhanje jajc Zlato jajce (Kogast, 2006).....	21
Slika 5:	Segrevanje jajc velikosti XL od sobne temperature do T_s 60 °C pri sočasnem segrevanju vode.....	30
Slika 6:	Linearen del segrevanja jajc velikosti XL od sobne temperature do T_s 60°C pri sočasnem segrevanju vode	30
Slika 7:	Segrevanje jajc velikosti XL od temperature hladilnika do T_s 60 °C pri sočasnem segrevanju vode.....	32
Slika 8:	Linearen del segrevanja jajc velikosti XL od temperature hladilnika do T_s 60 °C pri sočasnem segrevanju vode	33
Slika 9:	Segrevanje jajc velikosti XL od temperature hladilnika do T_s 64 °C pri konstantni temperaturi vode.....	35
Slika 10:	Linearen del segrevanja jajc velikosti XL od sobne temperature do T_s 64 °C pri konstantni temperaturi vode	36
Slika 11:	Masa jajc med 28 dnevnim skladiščenjem pri 5 °C	44

SEZNAM OKRAJŠAV

Okrajšava	pomen
BPW	puferirana peptonska voda (ang. Buffered peptone water)
cfu	kolonijska enota
k	koeficient prenosa toplote (s^{-1})
N	število mikroorganizmov (cfu/ml ali cfu/g)
R ²	korelacijski koeficient
S, M, L, XL	velikost jajc
T	temperatura (°C)
T _v	temperatura vode (°C)
T _s	središčna temperatura jajca (°C)
T _{so}	začetna središčna temperatura jajca (°C)
TSA	gojišče triptični soja agar (ang. Tryptone soya agar)
TSAP	gojišče triptični soja agar z dodatkom piruvata: gojišče TSA z dodatki: 0,3 ut. % kvasnega ekstrakta; 0,1 ut. % Na-piruvata; 1,4 ut. % agar bacteriological)
TSB	gojišče triptični soja bujon TSB (ang. Tryptone soya broth)
XLD	gojišče XLD (ang. Xylose lysine desoxycholate agar)

1 UVOD

Bakterije rodu *Salmonella* spadajo v družino Enterobacteriaceae in so gramnegativne, nesporogene, fakultativno anaerobne, gibljive palčke s fermentativnim in respiratornim metabolizmom (Gast, 2003).

Bolezen povzročeno z bakterijami rodu *Salmonella* imenujemo salmoneloza. Najpogostejši vir okužb so izdelki pripravljenih iz surovih jajc (omake, jajčne kreme, tiramisu), mesa (perutnina, svinjina, redko govedina ali ribe) ter tudi sadje in zelenjava (Krauss in sod., 2004). V svetu so bakterije rodu *Salmonella* med najpogostejšimi vzroki zastrupitev s hrano, te okužbe so v porastu. Najpogostejši vir okužb s salmonelami so živila živalskega izvora, predvsem perutnina in perutninski izdelki, vključno z jajci (WHO, 2002).

Jajca so pomemben del prehrane kot samostojno živilo ali kot sestavni del številnih izdelkov. Na kakovost jajc imata največji vpliv kakovost krme (izvor, kvaliteta) in način reje kokoši. Čeprav lahko na jajčnih lupinah odkrijemo vrsto raznovrstnih mikrobov, je zgodovina jajc kot izvora človeških bolezni povezana skoraj izključno z bakterijami rodu *Salmonella*. Različni sevi bakterij rodu *Salmonella* so bili odkriti na jajčnih lupinah, vendar je najpogosteje z velikim številom izbruhov bolezni povezan sev *S. Enteritidis*.

Trajnost in varnost jajc in jajčnih izdelkov, ki jih shranjujemo pri temperaturah hladilnika, je povezana z mikrobiološko kakovostjo. Primarno zagotavljanje mikrobiološke ustreznosti jajc in tekočih jajčnih izdelkov je lahko odvisno tudi od izbire primernega načina pasterizacije. Beseda pasterizacija se nanaša na toplotno obdelavo živil pri temperaturah pod tistimi, ki so potrebne za popolno sterilizacijo (Banwart, 1981). Postopki obdelave jajc so lahko termični (na primer pasterizacija jajc v lupini) in ne-termični (radiacija, ultrazvok).

Namen našega dela je bil ugotoviti preživelost bakterij vrste *Salmonella enterica* pri kuhanju jajc v aparatu Zlato jajce do nižjih središčnih temperatur (60 ° do 64 °C). Glede na različne čase segrevanja in različne središčne temperature smo želeli ugotoviti preživelost teh bakterij. Določali smo tudi vpliv velikosti ter starosti jajc na preživetje salmonel v jajcih.

Da bi opravili manjše število eksperimentov z umetno kontaminiranimi jajci, smo najprej določili profile segrevanja jajc. Naš namen je bil ugotoviti, ali se koeficient prenosa toplote jajca (k) razlikuje glede velikost in starost jajc, glede na način segrevanja jajc (segrevanje jajc sočasno s segrevanjem vode ali segrevanje jajc pri konstantni temperaturi vode) in glede na začetno temperaturo jajca. Jajca smo segrevali do središčnih temperatur (T_s) 60 °C in 64 °C. Iz dobljenih meritev T_s in T_v smo izračunali koeficiente prenosa toplote (k) in jih medsebojno statistično primerjali.

1.1 NAMEN NALOGE

Z izbranim sevom bakterij vrste *Salmonella enterica* bomo določili, kakšno je preživetje teh bakterij pri kuhanju jajc v aparatu za kuhanje jajc Zlato jajce do različnih središčnih temperatur (T_s 60 °C in 64 °C). Pri izbranih potekih kuhanja jajc do izbrane središčne temperature bomo določili vpliv mase oziroma velikosti jajc (XL, L, M, S) in vpliv starosti jajc (manj kot 1 teden, 2-3 tedne, več kot 3 tedne) na preživetje bakterij vrste *S. enterica*.

V prvem delu bomo določili temperaturno-časovne profile segrevanja jajc v aparatu Zlato jajce. Namen našega dela je ugotoviti ali velikost in starost jajc vplivata na parametre segrevanja. Jajca bomo segrevali na dva načina – segrevanje jajc vzporedno s segrevanjem vode in segrevanje jajc pri konstantni temperaturi vode. Uporabili bomo jajca bodo različnih velikosti (XL, L, M, S) in različnih začetnih temperatur ter jih segrevali do različnih T_s (60 °C, 64 °C). Preizkusili tudi segrevanje različno starih jajc (od 1 do 34 dni). Iz dobljenih podatkov bomo izračunali koeficiente prenosa toplote jajc (k) ter jih med seboj statistično primerjali. Vrednost k je namreč parameter, s katerim lahko primerjamo različne vplive na segrevanje jajc (Grijnspeerdt in Herman, 2003).

Preživelost bakterij rodu *Salmonella* bomo določali po kuhanju umetno kontaminiranih jajc, izbranih velikosti in starosti, v aparatu Zlato jajce s klasično mikrobiološko metodo preiskave posameznega vzorca jajca. Glede na različne načine in čase segrevanja ter različne temperature bomo ugotovili preživelost bakterij rodu *Salmonella*. Dobljene rezultate bomo primerjali z rezultati iz literature.

1.2 DELOVNE HIPOTEZE

Predvidevamo, da bomo z določitvijo koeficientov prenosa toplote jajc (k) pri različnih vplivih na segrevanje jajc v lupini lahko določili razmere, ki najbolj vplivajo na preživetje bakterij vrste *Salmonella enterica* v kuhanih jajcih.

Predvidevamo, da je preživelost bakterij vrste *S. enterica* odvisna od:

- velikosti jajc (večja preživelost pri večjih jajcih),
- središčne temperature jajca (večja preživelost pri nižjih T_s),
- starosti jajc (večja preživelost pri starejših jajcih),
- koncentracije salmonel v jajcu (večja preživelost pri večji koncentraciji) in
- načina segrevanja vode (večja preživelost salmonel pri sočasnem segrevanju vode in jajc v primerjavi s segrevanjem jajc pri konstantni temperaturi vode).

2 PREGLED OBJAV

2.1 BAKTERIJE RODU *Salmonella*

2.1.1 Splošne lastnosti

Bakterije rodu *Salmonella* spadajo v družino Enterobacteriaceae in so gramnegativne, nesporogene, fakultativno anaerobne, gibljive palčke s fermentativnim in respiratornim metabolizmom. Lahko fermentirajo glukozo (pri čemer nastajata kislina in plin), dulcitol, manitol, maltozo, redki sevi lahko fermentirajo saharozo in laktozo, ne morejo pa fermentirati malonata in salicina. Lahko proizvajajo vodikov sulfid v različnih medijih, dekarboksilirajo ornitin in lizin, izkoriščajo citrat kot edini vir ogljika in reducirajo nitrate v nitrite. Ne morejo hidrolizirati uree ali želatine ter ne tvorijo indola (Gast, 2003).

Kolonije bakterij rodu *Salmonella* so po izgledu na gojišču s hranljivi agar okrogle s premerom od 2 do 4 mm z gladkim robom, rahlo izbočene in svetleče (Gast, 2003).

Bakterije rodu *Salmonella* rastejo in se razmnožujejo pri temperaturah od 5 – 7 °C do 45 °C (Adamič in sod., 2003; Gast, 2003). Optimalna temperatura za rast bakterij rodu *Salmonella* je 37 °C, temperatura nad 65°C pa jih hitro uniči. Optimalna vrednost pH za rast je 7, lahko pa rastejo v razponu vrednosti pH med 4 in 9. Za rast potrebujejo tudi minimalno vrednost a_w 0,94.

2.1.2 Klasifikacija

Bakterije rodu *Salmonella* se delijo v dve vrsti in sicer: *S. enterica* in *S. bongori* (Popoff in Le Minor, 2005). Shelobolina in sod. (2004) so odkrili tudi novo vrsto *S. subterranea*, ki je potrjena z objavo v validacijskem listu 102 (Euzéby, 2005). Vrsta *S. bongori* obsega 21 poznanih sevov, izvor katerih so večinoma hladnokrvne živali in okolje, redkeje sesalci vključno s človekom (Yan in sod., 2003). Vrsta *S. enterica* se deli v šest podvrst (Popoff in Le Minor, 2005):

- *S. enterica* podvrsta *enterica*,
- *S. enterica* podvrsta *salamae*,
- *S. enterica* podvrsta *arizonae*,
- *S. enterica* podvrsta *diarizonae*,
- *S. enterica* podvrsta *houtenae* in
- *S. enterica* podvrsta *indica*.

Preko 99 % bakterij rodu *Salmonella* spada v vrsto *S. enterica*, blizu 60 % sevov te vrste spada v podvrsto *S. enterica* (Popoff in Le Minor, 2005; Yan in sod., 2003).

Bakterije rodu *Salmonella* razdelimo na različne serotipe ali seve s pomočjo treh skupin antigenov K - kapsularni antigen, H – flagelarni antigen in O – somatski antigen.

Kapsularni antigeni so strukturni proteini bičkov, kateri so toplotno neobstojni, somatski antigeni so toplotno obstojni polisaharidi. Vendar večina sevov bakterij rodu *Salmonella* ni dobila imena po antigenu, ampak po bolezni pri ljudeh in živalih, npr. seva *S. Enteritidis* in *S. Typhimurium* (Andlovic, 2002; Yan in sod., 2003).

2.1.3 Razširjenost in načini prenosa

Naravno okolje bakterij rodu *Salmonella* so prebavila sesalcev in ptičev, lahko jih najdemo tudi pri številnih členonožcih in pri vseh nevretenčarjih. Bakterije rodu *Salmonella* se pogosto pojavljajo pri živalih namenjenih za zakol (teleta, svinje), perutnini (kokoši, gosi, race), prosto živčih pticah v naravi (golobi), domačih živalih (psi, mačke, želve, kače), glodalcih (miši, podgane) ter pri drugih živalskih vrstah. Okužbe jajc z bakterijami rodu *Salmonella* so lahko na jajčni lupini ali v notranjosti. Tako se prenašata predvsem seva *S. Enteritidis* in *S. Typhimurium*, pogosteje se pojavlja sev *S. Enteritidis* (Andlovic, 2002). Z dobro higieno in zadostno toplotno obdelavo živil se lahko proces prenosa upočasni ali celo ustavi. Potrebna je tudi skrbna higiena predmetov (nožev, desk, strojev, delavnih površin), ki prihajajo v stik s potencialno kontaminiranimi živili (Krauss in sod., 2004).

Okužba iz prebavnega trakta živali (predvsem perutnine) se lahko prenese na jajca in meso z neustrezno higieno. Vir bakterij rodu *Salmonella* predstavljajo tudi okuženi ljudje s slabimi higienskimi navadami, kontaminirana živila, slaba higiena pribora. Pri kontaminiranih ali pogojno kontaminiranih surovinah je potrebno zagotoviti ustreznost živil z ustrežno toplotno obdelavo (WHO..., 2002). Bakterije rodu *Salmonella* so med najpogostejšimi povzročitelji okužb s kontaminirano hrano. Predvsem so okužena živila živalskega izvora, na prvem mestu sta meso perutnine in jajca.

2.1.3.1 Salmoneloza

To je bolezen, ki jo povzročajo bakterije rodu *Salmonella*. Viri okužb, ki so najpogostejši vzrok za to bolezen so izdelki, pripravljenih iz surovih jajc (npr. jajčne kreme, tiramisu), mesa (perutnina, svinjina), ter tudi sadje in zelenjava, pri katerih pride do kontaminacije med pripravo obroka. Vzrok za okužbo je lahko tudi obolel človek. Pri manjših otrocih in ljudeh z oslabljenim imunskim sistemom je okužba najnevarnejša, saj lahko povzroči dehidracijo (driska in bruhanje). Bolj ogroženi so tudi ljudje, ki imajo neposredni stik z živalmi in živalskimi proizvodi, kot so: delavci na kmetiji, trgovci z živino, veterinarji, klavci, mesarji, komunalni delavci, delavci v živilsko-predelovalni industriji ter delavci v restavracijah, gostiščih (Krauss in sod., 2004). Ogroženi pa so lahko tudi gostje v gostiščih, restavracijah in večjih prehranskih obratih (Krauss in sod., 2004).

Za okužbe s človeku neprilagojenimi sevi bakterij rodu *Salmonella* je značilna visoka vročina (do 40 °C), bruhanje, trebušne bolečine in diareja. Prvi bolezenski znaki pri salmonelozi se običajno pojavijo v 5 – 72 urah po zaužitju kontaminiranega živila,

najkasneje pa v 5 – 7 dneh, kar je odvisno tudi od konstitucije bolnika (Krauss in sod., 2004; Opinion of..., 2000). V 5 % okužb, ki so rizične, je smrtnost pacientov 2 %, predvsem zaradi dehidracije, obolenja ledvic ali septičnega šoka (Opinion of..., 2000).

V večini primerov poteka okužba z bakterijami rodu *Salmonella* po oralni poti, s kontaminirano vodo in živili. Infektivni odmerek bakterijskih celic salmonel je od 10^5 do 10^{10} , pri sevu *S. Typhi* pa zadostuje celo 10^3 bakterijskih celic. Potrebno pa je poudariti, da normalno kisel želodčni sok škoduje bakterijami rodu *Salmonella* (Andlovic, 2002).

Živila živalskega izvora, predvsem perutnina in perutninski izdelki, vključno z jajci so najpogostejši vir okužb s salmonelami (WHO, 2002). V svetu so bakterije rodu *Salmonella* med najpogostejšimi vzroki zastrupitev s hrano, te okužbe so v porastu. V ZDA je povprečno letno število (podatki od leta 1990 do leta 2001) obolelih ljudi s salmonelozo 661,633 (nihanje od 126.374 do 1.700.000), od tega 94 % ljudi ne obišče zdravnika, približno 5 % ljudi obišče zdravnika in 0,05 % obolelih umre (Sheldon, 2005).

Bakterije rodu *Salmonella* so v Evropi med najpogostejšimi povzročitelji zastrupitev s hrano. Število prijavljenih okužb na 100.000 prebivalcev za leto 1998 variira od 1,9 na Portugalskem do 135,7 v Belgiji (Opinion of..., 2000). Podatki o številu okužb z bakterijami rodu *Salmonella* v Sloveniji za leto 2004 (Salmoneloze, 2005) kažejo porast okužb v poletnih mesecih (julij, avgust, september) in v prednovoletnem času (druga polovica decembra). Vidi se trend naraščanja okužb, čeprav je v letu 2004 zaznati manjše število okužb, glede na leto 2003 (Salmoneloze, 2005). Število okužb s salmonelami narašča predvsem zaradi industrijsko predelane hrane in farmske reje živali. Salmonele so najpogostejši povzročitelj alimentarnih toksikoinfekcij v našem okolju. Bolnik s salmonelozo in slabimi higienskimi navadami je lahko prenašalec salmonel (Andlovic, 2002; Adamič in sod., 2003).

2.1.4 Toplotna odpornost bakterij rodu *Salmonella*

Na toplotno odpornost bakterij rodu *Salmonella* vpliva več dejavnikov, kot so: vrsta seva, stanje kulture pred postopkom toplotne obdelave, sestava živila ali drugega testnega medija, vrednost a_w in prisotnost kompetativne mikroflore (Doyle in Mazzota, 1999).

Določeni sevi vrste *S. enterica* so splošno znani po večji odpornosti na termične postopke in toplotno najbolj odporen sev je *S. Senftenberg 775W*. Čeprav ta sev salmonel ni tako pomemben kot patogen, je pogosto uporabljen kot testna bakterija. Ugotovljeno je, da če določen termični proces uniči sev *S. Senftenberg 775W*, bo prav tako učinkovit proti drugim bakterijam rodu *Salmonella*, ki jih pogosteje najdemo v živilih. Zato je pri načrtovanju pasterizacije potrebno upoštevati možno kontaminacijo živila s tem sevom in temu prilagoditi temperaturo in čas pasterizacije (Doyle in Mazzota, 1999).

V največ eksperimentih z jajci v lupini se je sev *S. Enteritidis* pokazal kot toplotno bolj odporen od seva *S. Typhimurium*. Pazljivo preučevanje krivulj odmiranja bakterij rodu

Salmonella med toplotno obdelavo odkriva dvofazno inaktivacijsko kinetiko. To lahko kaže na prisotnost dveh populacij celic, in sicer eno bolj toplotno odporno od druge. Te dve populaciji ne kažeta genetskih razlik. Zdi se, da odpornejša populacija celic proizvaja več proteinov toplotnega šoka (Doyle in Mazzota, 1999).

Razmere rasti prav tako vplivajo na toplotno odpornost testiranega mikroorganizma. Celice v fazi logaritemske rasti so bolj podvržene toplotnim vplivom kot celice v stacionarni fazi. Celice vzgojene pri višjih temperaturah oz. izpostavljene subletalnemu toplotnemu šoku in tiste vzgojene na gojiščih, ki vsebujejo omejujočo koncentracijo ogljikovih hidratov, so bolj toplotno odporne. Ta povečana toplotna odpornost lahko traja do 10 ur. Podatki o toplotni odpornosti različnih sevov bakterij vrste *S. enterica* v različnih živilskih izdelkih kažejo, da imajo od vseh izmerjenih vrednosti D (decimalni redukcijski čas) najvišjo toplotno odpornost salmonele v tekočih celih jajcih ter v tekočem rumenjaku (Doyle in Mazzota, 1999).

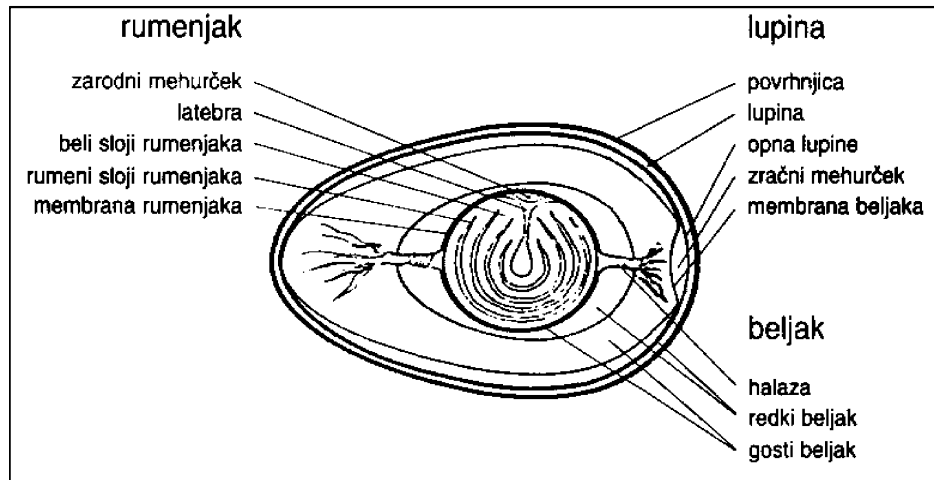
Raznovrstni toplotni postopki, ki jih uporablja živilska industrija in toplotna obdelava hrane doma, so večinoma uspešni pri uničevanju vegetativnih oblik patogenih bakterij, ki se nahajajo v hrani. Ti termični procesi so se razvili sčasoma in temeljijo na eksperimentalnih podatkih o uničevanju bakterij v različnih živilih. Vendar občasno se pojavijo tudi bakterije rodu *Salmonella*, ki preživijo postopke toplotne obdelave živil. To je verjetno posledica sprememb v sestavi in lastnostih ter spremembe v kislosti, suhi snovi ali pa vodni aktivnosti živila (a_w), kar vpliva na toplotno odpornost bakterij rodu *Salmonella* (Doyle in Mazzota, 1999).

2.2 LASTNOSTI JAJC

Jajca so pomemben del naše vsakdanje prehrane, kot samostojno živilo ali kot sestavni del številnih živilskih izdelkov. Na kakovost jajc imata največji vpliv kakovost krme (izvor, kvaliteta) in način reje kokoši (Zorko, 1995). S staranjem jajca se spreminja njegova sestava. Povečuje se predvsem zračna komora med zunanjo in notranjo membrano, kar pomeni večja kot je zračna komora, starejše je jajce. Sveža jajca imajo vrednost pH med 7,6 in 7,8; vrednost pH beljaka naraste pri hranjenju jajc pri sobni temperaturi 1 – 3 dni od 9,1 do 9,6 (Roberts in sod., 1998; Zorko, 1995).

2.2.1 Zgradba jajca

Jajce je sestavljeno iz lupine, beljaka in rumenjaka (slika 1).



Slika 1: Zgradba jajca (Holcman in sod., 2004: 99)

Lupina jajca je obdana z zaščitnim slojem imenovanim kutikula ali povrhnjica, katera zapira številne pore na jajčni lupini, dovoljuje izmenjavo plinov in vode skozi pore, hkrati pa ščiti jajce pred vdorom mikroorganizmov. Ko se jajce stara se ta lastnost izgublja in tako imajo plesni in bakterije večje možnosti vdora v jajce. Mehansko čiščenje ali umivanje jajc lahko odstrani zaščitni sloj. Lupina jajca predstavlja naravno neelastično, vendar relativno trdno embalažo, ki je debela 0,2 – 0,4 mm ter sestavljena iz organske membrane z mrežasto strukturo in vmesnega anorganskega (apnenčastega) sloja. Pore, ki se nahajajo v apnenčastem sloju, omogočajo prehod plinov med zunanjim in notranjim okoljem jajca. Število por na jajčni lupini narašča s staranjem kokošje jate. V času skladiščenja se povečuje število prehodnih por. Velikost por na površini je 15 – 60 μm , v notranjosti pa 6 – 23 μm , kar zadošča za prehod bakterij v notranjost. Membrana je dvoslojna, sestavljena iz opne lupine (zunanji sloj) in membrane beljaka (notranji sloj), ki se prekrivata, na topem delu jajca se razmakneta in tvorita zračni mehurček, ki je pokazatelj svežine jajca in se veča s starostjo jajca.

Beljak je sestavljen v večini iz vode (87,9 %). Na drugem mestu so beljakovine: ovalbumin (5,4 %), konalbumin (13 %), ovomukoid (11 %), lizozim (3,5 %), ovomucin (1,5 %), flavoprotein – apoprotein (0,8 %), ovoinhibitor (0,1%), avidin (0,05 %), ter globulini in drugi proteini (8 %). Beljak sestavljajo halaza ter redki in gosti beljak. Notranji in zunanji sloj beljaka sestavljata redki, tekoči beljak, srednji sloj pa je žilav in gost. Srednji, viskozni sloj beljaka na krajih zaključujejo halaze, spiralno zvite niti, katere povezujejo rumenjajak z beljakom in ga držijo v centralni legi. Razmerje med gostim in redkim beljakom pri svežem jajcu je 2 : 1, s staranjem jajca se spremeni v 1 : 1. (Roberts in sod., 1998; Zorko, 1995).

Rumenjak zaradi vsebnosti maščob (63,1 % trigliceridov, 4,9 % prostega holesterola, 1,3 % holesterola, 0,9 % prostih maščobnih kislin, 29,7 % fosfolipidov) teži vedno navzgor, ker je specifično lažji od beljaka (Zorko, 1995). Rumenjak je obdan s tanko štirislojno membrano, imenovano tudi vitelinska ovojnica (Gašperlin in Bem, 2003). Beli sloj rumenjaka leži v petih slojih rumenega sloja rumenjaka. Latebra (tvorni rumenjak) je v obliki kija, v njem se nahaja zarodni mehurček (ploščica). Pri maščobah prevladujejo fosfolipidi, pomembna je tudi vsebnost vitaminov (askorbinska kislina, tiamin, riboflavin, niacin, pantotonska kislina, vitamin A, vitaminov B₆, B₉ in B₁₂), mineralov (kalcij, železo, magnezij, cink, baker, mangan), encimov, pigmentov in hormonov (Gašperlin in Bem, 2003; Roberts, 1998; Zorko, 1995). Večina jajčnega rumenjaka se uporabi v slaščičarstvu, pekarstvu in pri izdelovanju majonez (Board in Fuller, 1994). Koagulacija rumenjaka se prične pri 65 °C.

2.2.2 Kakovost jajc

Kakovost jajc preverjamo na več načinov in sicer:

- jajca opazujemo pod UV svetlobo: sveža in neoprana jajca modro fluorescirajo medtem ko starejša ko so bolj rdeče fluorescirajo;
- jajca presvetljujejo: opazujemo prosojnost presvetljenega jajca s pomočjo ovoskopa, sveže jajce je bistro in svetlo, zračna komora je nizka-manj kot 5 mm, rumenjak je slabo viden in gibljiva pega je v sredini jajca;
- ugotavljamo svežost jajc s potapljanjem jajc v preizkusne raztopine 10 %, 6 % in 3 % raztopino NaCl v destilirani vodi: čim bolj sveže je jajce tem večjo specifično težo ima in obratno;
- ugotavljamo svežost jajc s pregledom rumenjaka in beljaka: sveže jajce ima izbočen rumenjak, čvrsto ovojnico in rumenjak v jajcu zavzema majhno površino, medtem ko ima staro jajce beljak obdan z rumenjakom v veliki plitvi mlaki (beljak);
- ugotavljamo svežost jajc z refrakcijo: starostno in vrednostno število določimo na osnovi lomnega količnika rumenjaka in beljaka posebej s pomočjo refraktometra;
- ugotavljamo umetna barvila v rumenjaku (dušikova kislina razbarva barvila, če so le-ta dodana rumenjaku);
- ugotavljamo prisotnost apna ali vodnega stekla kot konzervansa pri jajcih tako, da opazujemo način razlivanja in obarvanja lupine z bromtimol modrim, saj se pri nekonzerviranem jajcu kapljica indikatorja ne razliva po površini in se po nekaj sekundah obarva modro zeleno, po spiranju z vodo ostane svetlo moder madež. Pri jajcu konzerviranem v vodnem steklu, se kaplja indikatorja razliva in širi po površini, rob je raztrgan. Lupina je alkalna in da z indikatorjem takoj modro barvo, ki po spiranju z vodo skoraj popolnoma izgine. Pri jajcu, konzerviranim z apnom, se kaplja indikatorja širi in razliva po površini, po nekaj sekundah se obarva modro, po spiranju z vodo pa ostane svetlo moder madež (Plestenjak in Golob, 2000).

Jajca se po kakovosti razvrščajo na (EGS, 1907/90):

- jajca razreda "A" ali sveža jajca,
- jajca razreda "B" ali "jajca druge kakovosti" oziroma "podklasirana jajca", namenjena industriji in
- jajca razreda "C" glede kakovosti ne ustrezajo prejšnjima razredoma in so namenjena uporabi izključno v industriji.

Jajca kakovostnega razreda "A" in "oprana" jajca se razvrščajo glede na maso (Uredba komisije (ES) 2295, 2003):

- XL: zelo velika 73 g in več
- L: velika od 63 g do 73 g
- M: srednja od 53 g do 63 g
- S: majhna pod 53 g

Rok trajanja za jajca razreda A in "oprana" jajca je največ 28 dni od dneva znesitve (Uredba komisije (ES) 2295, 2003).

Za ustrezno kakovost jajc in jajčnih izdelkov je potrebno zagotoviti tudi primerno skladiščenje svežih jajc v zračnem in suhem prostoru pri enakomerni temperaturi od 5 °C do 18 °C, najbolje pa je uporabiti temperaturo od 0 °C do 1 °C, da se prepreči izsuševanje jajc. Relativna vlaga v skladišču mora biti med 70 % in 85 %. V dobro prezračenih prostorih, brez tujih vonjev in velikih temperaturnih nihanj je jajca možno skladiščiti tudi do 8 mesecev, v prostorih s kontrolirano atmosfero pa tudi do 12 mesecev. Med skladiščenjem in transportom morajo jajca ostati suha, brez tujih vonjev, čista in zaščitena pred vremenskimi vplivi, svetlobo in trki (Doganoc in Komar, 2001).

2.2.3 Funkcionalne lastnosti jajc

Jajca imajo visoko prehransko in biološko vrednost ter so pomemben vir visoko vrednih beljakovin in maščob. Jajčni beljak sestavljajo proteini, katerih aminokislinsko razmerje je skoraj idealno za prehranske potrebe ljudi. Večina glavnih hranilnih snovi se nahaja v rumenjaku, posebej so pomembni lipoproteini. Glavne prehranske komponente jajčnega rumenjaka so proteini (16 – 17 %) in maščobe (31 – 33 %). Glavne komponente maščob so triacilgliceroli, fosfolipidi in holesterol. V maščobah se nahajajo še barvila, v maščobah topni vitamini in minerali (Cherian, 2006). Prebavljivost jajca je 97 % in je med vsemi beljakovinskimi živali največja, kar pogojuje zelo visok proteinski izkoristek. (Zorko, 1995; Gašperlin in Bem, 2003). Povprečna energijska vrednost 100 g jajčne mase (jajčni melanž) je 155 kcal oziroma 657 kJ (Zorko, 1995).

Jajčni proteini imajo visoko biološko vrednost in zaradi njihove količine (približno 12 % užitnega dela jajca) in jih moramo obravnavati kot dragoceno proteinsko živilo. Še več lastnosti jajčnih proteinov, predvsem hitra koagulacija je razlog, da se jajca uporabljajo v mnogih postopkih priprave hrane. Prehrabena vrednost jajca je visoka, saj jajce vsebuje dragocene vire železa, fosforja, proteinov visoke biološke vrednosti, uporabne količine

maščob, vitamina A in kalcija. Vsebuje tudi nekaj vitamina D, riboflavina, tiamina in biotina (Fox in Cameron, 1995).

Znano je, da so jajca tudi široko kulinarično in tehnološko uporabna. Predstavljajo živilo za pripravo jedi, ki jih uživamo v različnih obrokih. Kulinarične oblike jajc in jajčnih jedi so uveljavljene v hladni in topli kuhinji ter sestavljajo predjedi, glavne jedi in poobedke. Lahko se uporabljajo kot temeljna sestavina v samostojnih jedeh ali kot dodatek jedem. V tem smislu so pomembne tehnološke funkcije jajc, kot so koaguliranje, zgoščevanje, povezovanje, penjenje, rahljanje in emulgiranje. To pomeni, da v kulinarični pripravi lahko z jajci zgotimo in izboljšamo juhe, omake, kreme; najdemo jih v večini test; povežemo nadeve in pretlačene jedi; povežemo meso v sekljanih zrezkih; jajca so vezivo v panadi; z njimi glaziramo kruh in pecivo; bistrimo juhe; vplivamo na zlato rumeno in hrustljivo teksturo ocvrtih jedi; izdelujemo majoneze, solatne prelive in drugo. S temi tehnološkimi postopki posredno vplivamo na izboljšanje senzoričnih (jedilnih) lastnosti jedi (barva, aroma, tekstura), kar pa izboljša gastronomsko-kulinarični vidik hrane (Skvarča, 1998).

2.2.3.1 Spremembe v jajcih med kuhanjem

Med segrevanjem jajc pride do koagulacije proteinov. Hitrost koagulacije je odvisna od razmer, kot so temperatura, pH in koncentracija soli. Beljak začne koagulirati pri pH okrog 9 in temperaturi 60 °C. Pri višjih temperaturah hitrost koagulacije narašča do neke meje čez katero je skoraj takojšnja. Jajčni rumenjaki ne koagulirajo tako hitro kot beljak in sicer ne pod 70 °C. Med procesom koagulacije se povečuje viskoznost rumenjaka, do te mere da postane trden. Če jajca kuhamo predolgo pride do koagulacije proteinov in posledično do gumijaste teksture, predvsem jajčnega beljaka (Fox in Cameron, 1995).

Na temperaturo koagulacije vpliva tudi dodatek tekočine. Če jajca razredčimo, se temperatura koagulacije zviša. Če dodamo preveč tekočine, se med kuhanjem jajca zgrudijo in separirajo. Če je dodano premalo tekočine, se jajca pripravljajo predolgo, oblikuje se masa gumijaste teksture. Optimalna tekstura stopenih jajc se doseže z dodatkom 10-25 ml mleka/jajce in seveda tudi neprestanim mešanjem, da ostanejo rahla in kremasta (Skvarča, 1997).

Naravno prisotne soli so nujne za koagulacijo. Dodane soli (laktati, kloridi, sulfati, fosfati) pospešijo koagulacijo. Če jajca med kuhanjem počijo, z dodatkom soli pospešimo koagulacijo.

Sladkor zviša temperaturo koagulacije proporcionalno s količino dodanega sladkorja. Dodatek kisline zniža temperaturo koagulacije. V praksi je znano, da za pripravo zakrknjenih jajc dodajamo kis, ki vpliva na boljšo koagulacijo (beljak se strdi in obdaja še mehki rumenjaki) (Skvarča, 1997).

2.3 PASTERIZACIJA JAJC V LUPINI

Čprav lahko na jajčnih lupinah odkrijemo vrsto raznovrstnih mikrobov vključujoč patogene bakterije kot so *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes* in *Yersinia enterocolitica*, ki so sposobne preživetja ali rasti v jajcu, je zgodovina jajc kot izvora človeških bolezni povezana skoraj izključno z bakterijami rodu *Salmonella*. Različni sevi bakterij rodu *Salmonella* so bili odkriti na jajčnih lupinah, vendar je le sev *S. Enteritidis* povezan z velikim številom izbruhov bolezni v zadnjih desetletjih.

Kot precej drugih gostitelju neprilagojenih sevov, sev *S. Enteritidis* največkrat okuži perutnino preko gastrointestinalnega trakta. S kolonizacijo ovarija (mesto zorenja rumenjaka in valitve) sev *S. Enteritidis* najverjetneje vstopa v notranji del jajca. Bolj pogosta je kontaminacija jajc po valjenju zaradi umazanije v zraku in drugih virov v valilnici ali v obratu za predelavo jajc, kot posledica slabih ali celo neustreznih higienskih razmer. Med predelavo se lahko patogeni mikroorganizmi s površine jajc prenesejo v užitni tekoči del jajc, ko se jajca razbijajo oz. ob ločevanju lupin in tekočega dela. Bakterije lahko tudi prodrejo skozi jajčno lupino in preidejo v notranjost jajca. V nekaterih državah se jajca rutinsko perejo z namenom, da odstranijo patogene in kvarljivce z jajčnih lupin, vendar lahko neprimerna kontrola temperature med samim postopkom pranja jajc ustvari tlačni gradient, ki olajša gibanje mikrobov skozi membrane pod lupino in v notranjost jajca. Na lupinah jajc najdemo različne serotipe salmonel, vendar samo sev *S. Enteritidis* povezujejo z večjim številom okužb z jajci v zadnjih desetletjih (Gast 2005).

2.3.1 Postopki obdelave jajc v lupini

Trajnost in varnost jajčnih izdelkov, ki jih shranjujemo pri temperaturah hladilnika, je tesno povezana z mikrobiološko kvaliteto končnega, pakiranega proizvoda, ko le-ta vstopi v distribucijsko verigo. Primarno zagotavljanje mikrobiološke ustreznosti tekočih jajčnih produktov je lahko odvisno tudi od izbire primerne načina pasterizacije. Beseda pasterizacija se nanaša na toplotno obdelavo živil pri temperaturah pod tistimi, ki so potrebne za popolno sterilizacijo.

Postopki obdelave jajc so termični, na primer pasterizacija jajc v lupini in ultra-pasterizacija jajc v lupini, ter ne-termični, na primer radiacija, ultrazvok, dodatek encima glukoza oksidaza (encim, pogosto uporabljen za stabilizacijo tekočega beljaka) in dodatek nizina (bakteriocin - proizvod bakterij vrste *Lactococcus lactis*, najbolj proučen in edini uporabljen v komercialne namene za konzerviranje hrane).

Omejujoč faktor v razvoju pasterizacije jajc je dejstvo, da so časovno - temperaturne kombinacije potrebne za inaktivacijo bakteriji rodu *Salmonella* v jajčnih produktih enake ali blizu tistim, ki povzročajo spremembe fizikalnih in funkcionalnih lastnosti jajčnih proteinov. Znanih je več različnih načinov pasterizacije jajc (Sheldon, 2005).

2.3.1.1 Pasterizacija jajc v lupini

Učinek toplotne obdelave jajc na inaktivacijo bakterij seva *S. Enteritidis* v jajcih v lupini, je bil ovrednoten s segrevanjem vode in potapljanjem jajc. Bakterije seva *S. Enteritidis*, ki so jih inokulirali blizu centra rumenjaka v koncentraciji 3×10^8 cfu/jajce, so bile popolnoma inaktivirane v 50 - 57,5 minutah v vodni kopeli s temperaturo 58 °C in v 65 - 75 minutah pri temperaturi 57 °C (Schuman in sod., 1997).

2.3.1.2 Ultra-pasterizacija jajc v lupini

Ball in sodelavci (1987) so dokumentirali razvoj ultra-pasterizacijskih procesov za jajca v lupini. Jajca so segrevali pri temperaturah pod 60 °C manj kot 3,5 minute in naknadno aseptično pakirali in tako dobili produkt z rokom trajanja 3 - 6 mesecev pri temperaturi 4 °C. Komercialno obdelana jajca so imela v nasprotju z omenjenimi deklariran rok uporabe 10 tednov pri 4 °C. Podaljšani rok ultra-pasteriziranih jajc je odvisen od same mikrobiološke kvalitete jajc, toplotne obdelave, pakiranja produkta z uporabo sterilnega filtra v sterilnem območju ter vzdrževanja primerne temperature skladiščenja (1 - 4 °C) skozi distribucijo in maloprodajo. V primerjavi z običajno pasteriziranimi jajci, ultra-pasterizirana jajca ponujajo večjo mikrobiološko stabilnost (pri 1 - 4 °C) in večjo varnost pred kontaminacijo s salmonelami.

2.3.1.3 Vpliv toplotne obdelave jajc na preživelost bakterij rodu *Salmonella*

Kuhana jajca so zelo pogosta jed. Ločimo tri vrste kuhanih jajc: mehka, srednje in trdo kuhana. Tveganje za mikrobiološko kontaminacijo je najnižje pri trdo kuhanih jajcih, medtem ko srednje in še posebno mehko kuhana jajca predstavljajo potencialno nevarnost za salmonelozo.

Na toplotno odpornost bakterij rodu *Salmonella* vpliva več dejavnikov kot so: vrsta seva, temperatura pasterizacije, začetno število bakterij v živilu, medij, vrednost pH, vrednost a_w , kontaktni čas, stres. Toplotno najbolj odporen sev je sev *S. Senftenberg 775W* in zato je pri načrtovanju pasterizacije potrebno upoštevati možno kontaminacijo živila s tem sevom in temu prilagoditi temperaturo in čas pasterizacije. V večini eksperimentov z jajci so se bakterije seva *S. Enteritidis* pokazale kot bolj odporne na toploto kot bakterije seva *S. Typhimurium* (Doyle in Mazzota, 1999).

Pri toplotni obdelavi jajc se soočamo z dvema težavama. Visoke temperature povzročajo koagulacijo proteinov in spremenijo zgradbo in s tem zmanjšajo možnosti uporabe visokih temperatur za toplotno obdelavo jajc. Druga težava je ta, da je prenos toplote v notranjost jajca relativno počasen proces. Posebej to velja za jajca, ki jih segrevamo z vročim zrakom (55 °C), zato se je ta postopek izkazal za nepraktičnega. Segrevanje v vroči vodi (57 °C) 25-30 minut zmanjšuje število inokuliranih celic bakterij seva *S. Enteritidis*, vendar jih ne uniči popolnoma. Če ta postopek kombiniramo s 60 minutno inkubacijo v vročem zraku lahko dosežemo zmanjšanje števila salmonel za 10^7 (Doyle in Mazzota, 1999).

Bakterije seva *S. Enteritidis* rastejo zelo hitro pri temperaturi 23 °C, še več celice namnožene pri tej temperaturi so toplotno bolj odporne od celic namnoženih v jajcih pri temperaturi hladilnika. Zato shranjevanje jajc pri sobni temperaturi ne omogoča le hitrejšo rast bakterij, temveč tudi poveča njihovo toplotno odpornost. Pri velikih stopnjah kontaminacije jajc z bakterijami seva *S. Enteritidis*, nobena metoda kuhanja ni dovolj učinkovita v uničevanju bakterij (Doyle in Mazzota, 1999)

Hou in sod. (1996) so proučevali preživelost bakterij seva *S. Enteritidis* pri pasterizaciji umetno kontaminiranih jajc v lupini. Uporabljali so vodno kopel in vroč zrak posamezno ali v kombinaciji. V jajcih, pasteriziranih 25 minut v vodni kopeli s cirkulacijo vode pri 57 °C, so dosegli zmanjšanje števila za 3 log stopnje, medtem ko je pri 180 minutnem segrevanju na 55 °C v pečici na vroči zrak povzročilo zmanjšanje števila salmonel za 5 log stopenj. Kombinacija omenjenih metod (25 minutno segrevanje v vodni kopeli s temperaturo vode 57 °C in nato pa 60 minutno segrevanje s pomočjo vročega zraka segretega na 55 °C) je bila najučinkovitejša, saj se je število salmonel zmanjšalo za 7 log stopenj.

Petnajst minutno kuhanje jajc do središčne temperature rumenjaka 88 °C in 7 minutno kuhanje do središčne temperature rumenjaka 75,4 °C je učinkovito uničilo bakterije seva *S. Typhimurium* (Doyle in Mazzota, 1999). Mehko kuhanje jajc od 3 do 5,5 minut pa ni bilo učinkovito. To pomeni, da je preživetje bakterij rodu *Salmonella* odvisno od časa segrevanja in dosežene središčne temperature.

Uspešnost pasterizacije jajc v lupini so preučevali tudi Schuman in sod. (1997). Sveža, oprana in očiščena jajca teže 62±2 g so kontaminirali z bakterijami seva *S. Enteritidis* preko jajčne lupine s koncentracijo celic približno 3×10^8 cfu v sredino jajčnega rumenjaka. Pri takšni kontaminaciji jajc je bila uspešna 50 – 57,5 minutna pasterizacija v vodni kopeli pri 58 °C oziroma pri 57 °C v času 65 – 75 min.

Glede na raziskavo Grijspeerdta in Hermana (2002) je stopnja preživelosti salmonel pri kuhanju jajc v lupini odvisna od hitrosti segrevanja rumenjaka, saj so bakterije bolj odporne in v večji meri preživijo počasnejše postopke segrevanja, kot pa hitro segrevanje, medtem ko velikost jajc in (v raziskavo so vključili jajca velikosti L in M) in njegova začetna temperatura (sobna temperatura ali temperatura hladilnika) niso vplivali na preživelost salmonel.

Glede na podatke o toplotni odpornosti bakterij rodu *Salmonella* naj bi tradicionalna postopka pasterizacije celih jajc, ki se segrevajo 3,5 minute pri 60 °C (Amerika) ali 2,5 minute pri 64 °C (Anglija), zadostovala za 5 do 9-kratno decimalno redukcijo najpogostejših sevov salmonel (*S. Typhimurium* in *S. Enteritidis*) (Manas in sod., 2003). Vendar so v živilih izolirali tudi na toploto zelo odporen sev *S. Senftenberg*, pri katerem so tradicionalni postopki toplotne obdelave povzročili le 4-kratno decimalno redukcijo bakterij seva *S. Senftenberg*, in zato naj bi bila jajca okužena z omenjenim sevom manj varna.

2.3.1.4 Toplotna obdelava jajc v aparatu Pollux

Prisotnost bakterij rodu *Salmonella* v jajcih predstavlja veliko tveganje za varnost živil, predvsem, če so kontaminirana jajca uporabljena kot surova ali uporabljena v nekuhanih obrokih in desertih. Aparat Pollux (Pollux, User manual, 2002) je kuhinjski pripomoček, s katerim se ob uporabi patentirane tehnologije pasterizira surova jajca v lupini.

Namen študije, ki so jo opravili Hazeleger in sod. (2004) je bila določitev zmanjšanja števila bakterij rodu *Salmonella* v jajcih, ki se termično obdelajo v aparatu Pollux. Rumenjake celih jajc so inokulirali z bakterijami seva *S. Enteritidis* ali *S. Typhimurium* (do 100 cfu/ml rumenjaka) skozi malo luknjico v lupini. Jajca so bila hranjena pri sobni temperaturi najmanj 3 dni. Tako so ustvarili razmere, ki so značilne za jajca v industriji in prodajni verigi. Med tem shranjevanjem sta se oba seva bakterij namnožila do koncentracije 10^8 cfu/ml rumenjaka. Potem so bila jajca toplotno obdelana v aparatu Pollux. Aparat ima 2 nastavitvi, tako imenovano hitro kuhanje (20 minutni čas obdelave) ter normalno kuhanje (40 minutni pasterizacijski postopek). Hitra metoda je popolnoma uničila vse bakterije rodu *Salmonella*, kar je bilo določeno s štetjem kolonij na ploščah z gojiščema TSA in VRBG ter po obogatitvi jajc v gojišču BPW in naknadni izolaciji salmonel na gojišču VRBG. Normalen postopek pa je pokazal majhno število preživelih bakterij rodu *Salmonella*, ki se je spreminjalo v različnih eksperimentih od 0 pa do 100 cfu/ml rumenjaka. V tem postopku je bila določena tudi vrednost D (5 minut), kar potrjuje možnost preživetja bakterij rodu *Salmonella* po 40 minutah toplotne obdelave, če je bila začetna koncentracija približno 10^8 cfu/ml rumenjaka. Temu problemu bi se lahko izognili z regulacijo časa oz. temperature med samim procesom.

3 MATERIAL IN METODE

3.1 MATERIAL

3.1.1 Bakterijski sev

Za izvedbo eksperimentalnega dela smo uporabili bakterije seva *Salmonella* Enteritidis ŽM351 (vir izolacije: jajčni melanž) iz zbirke Laboratorija za živilsko mikrobiologijo, Oddelka za živilstvo, Biotehniške fakultete. Glede na rezultate o preživelosti pri pasterizaciji pri 60 °C v gojišču TSB in pri pasterizaciji pri 60 °C v jajčnem melanžu je bil sev *S. Enteritidis* ŽM351 izmed vseh testiranih sevov najodpornejši na segrevanje (Strelec, 2006).

3.1.2 Mikrobiološka gojišča

Neselektivna gojišča:

- gojišče triptični soja agar TSA (ang. Tryptone soya agar, Oxoid, CM 0131, Basingstoke, Anglija),
- gojišče triptični soja bujon TSB (ang. Tryptone soya broth, Oxoid, CM 0129, Basingstoke, Anglija),
- gojišče TSAP je gojišče TSB z dodatki: 0,3 ut. % kvasnega ekstrakta, Biolife, 411030, Milano, Italija; 0,1 ut. % Na-piruvata, Sigma, P2256-256, Japan; 1,4 ut. % agar bacteriological, Biolife, 412220, Milano, Italija),
- gojišče puferirana peptonska voda BPW (ang. Buffered peptone water, Merck, 1.07500.0001, Darmstadt, Nemčija)

Selektivna gojišča:

- gojišče XLD (ang. Xylose lysine desoxycholate agar, Biolife, 4022062, Milano, Italija),
- gojišče Rambach (Merck, 1.07228.0500, Darmstadt, Nemčija)

3.1.3 Živilo

Pri eksperimentalnem delu smo uporabili jajca velikosti S, M, L in XL (proizvajalci: Šentjurska jajca, Jata jajca, Jajca izpod Kamniških planin). Jajca smo dobili dan po znesitvi in jih hranili v hladilniku do različnih starosti (do 38 dni).

3.1.4 Druge kemikalije

- alkohol 96 % (Merck, 1.00971.6025, Darmstadt, Nemčija),
- fosfatni pufer pH 7,2 (42,5 mg KH₂PO₄/l) (Kemika, 11161, Zagreb)

3.1.5 Laboratorijska oprema

- mešalo za epruvete (Yellow line, TTS2, IKA, ZDA),
- digitalna tehtnica (Mettler toledo, PB 1502-S, Mono Bloc),
- inkubator (T-115 C, Kambič, Slovenija),
- avtoklav (Tip 250, Sutjeska, Beograd, Jugoslavija),

- aparat za kuhanje jajc Zlato jajce (Kogast, Grosuplje, Slovenija)
- avtomatska pipeta 1 ml (Pipetman P 1000, Gilson),
- avtomatska pipeta 5 ml (Labsystems 4500, Finpipette),
- hladilnik (Gorenje, Velenje, Slovenija),
- zmrzovalna skrinja (Gorenje, Velenje, Slovenija) in
- termometer (multifunkcijski merilni inštrument Almemo, Nemčija)

Pri izvedbi poizkusov smo uporabili tudi različne laboratorijske pripomočke, kot so: plinski gorilniki, sterilne plastične petrijevke, epruvete, erlenmajerice, steklenice s pokrovom, sterilne cepilne zanke za enkratno uporabo, stojala za epruvete, vrečke za izdelovanje ledu, injekcijske brizgalke, svedre za vrtanje lukenj v jajca in papirnate brisače.

3.1.6 Aparat Zlato jajce

Med eksperimentalnim delom je bil aparat Zlato jajce povezan z računalnikom tako, da je bilo možno z njim upravljati preko računalnika s posebnim programom Egg cooker evaluator, V 3.2, ki ga je napisal doc. Marjan Jenko. S tem programom je bilo možno regulirati temperaturo vode oz. grelca, krmiliti črpalke in ustrezne ventile. Aparat Zlato jajce omogoča zelo natančno regulacijo temperature vode neodvisno od količine jajc v napravi.

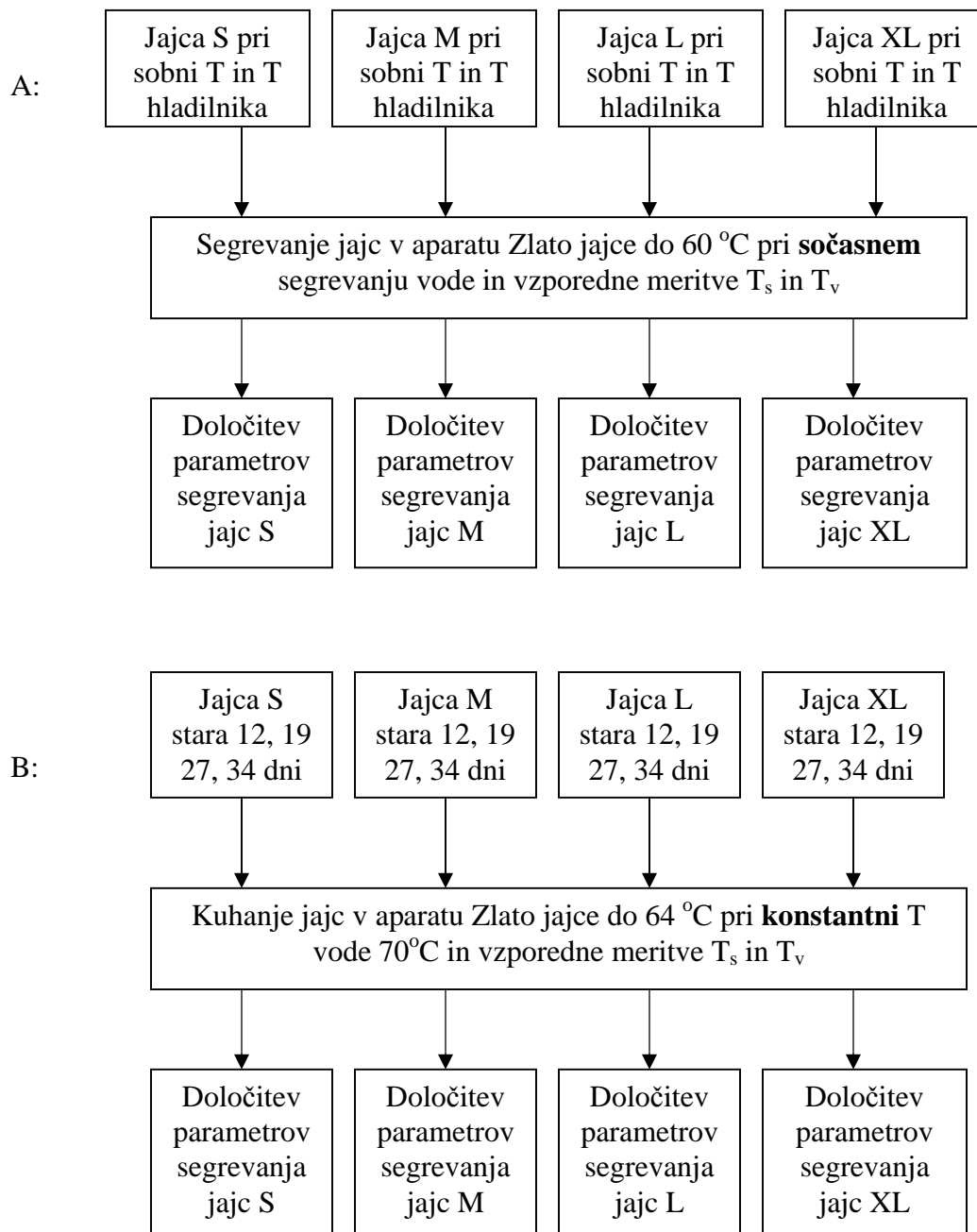
3.2 METODE

3.2.1 Potek eksperimenta

Eksperimentalno delo je potekalo v treh delih. V prvem delu (slika 1, A) smo v aparatu Zlato jajce določili parametre segrevanja jajc različnih velikosti (S, M, L in XL). Jajca smo segrevali ob sočasnem segrevanju vode do središčne temperature jajc 60 °C, in sicer tako, da smo segrevanje jajc začeli enkrat pri sobni temperaturi jajc in drugič pri temperaturi hladilnika.

V drugem delu (slika 1, B) smo segrevali jajca različnih velikosti (S, M, L in XL) do središčne temperature jajc 64 °C pri konstantni temperaturi vode (70 °C). Ob začetku segrevanja so imela jajca temperaturo hladilnika. V tem delu smo eksperiment ponovili za štiri različne starosti jajc, in sicer 12, 19, 27 in 34 dni stara jajca.

V prvem in drugem eksperimentalnem delu smo posamezen eksperiment opravili v štirih paralelkah. Vedno smo spremljali središčno temperaturo jajca (T_s) in temperaturo vode (T_v), meritve temperatur so bile opravljene vsako sekundo. Rezultati meritev so bili shranjeni v računalniku za kasnejšo obdelavo podatkov.

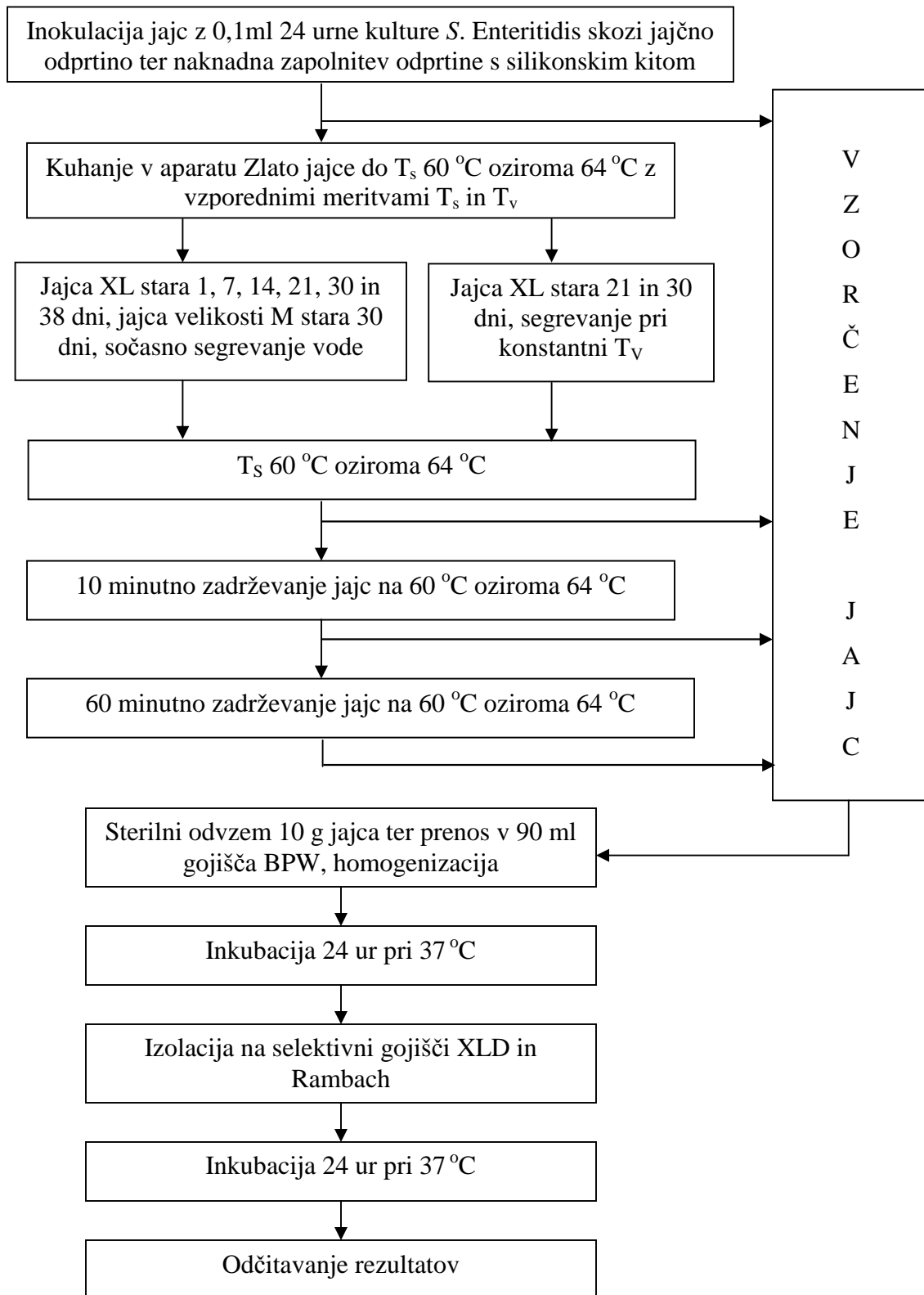


Slika 2: Shema eksperimentalnega dela določitve temperaturnih parametrov segrevanja jajc različnih velikosti do T_s 60 ° oziroma 64 °C v aparatu Zlato jajce pri sočasnem segrevanju vode (A) in pri konstantni temperaturi vode (B)

Legenda:

T_s središčna temperatura jajca (°C)

T_v temperatura vode (°C)



Slika 3: Shema eksperimentalnega dela določitve preživelosti bakterij seva *S. Enteritidis* v različno starih jajcih velikosti XL in M do T_s 60 ° oz. 64 °C v aparatu Zlato jajce

V tretjem delu (slika 3) smo segrevali umetno z bakterijami seva *S. Enteritidis* kontaminirana jajca različnih starosti (1, 7, 14, 21 ter 30 dni) in velikosti XL. Segrevali smo tudi manjša jajca velikosti M s pretečenim rokom uporabe, ki smo jih kontaminirali z bakterijami seva *S. Enteritidis*. Jajca velikosti M in XL smo segrevali sočasno s segrevanjem vode do T_s 60 °C. Jajca velikosti XL stara 21 ter 30 dni so bila segrevana s konstantno temperaturo vode (70 °C) do središčne temperature jajca 64 °C. Vsa jajca so imela tri zadrževalne čase na omenjenih temperaturah (T_s 60 in 64 °C) in sicer 0 min, 10 min in 60 min. Za vsak zadrževalni čas smo odvzeli 10 g vzorca posameznega jajca in v njem določili preživelost salmonel.

3.2.2 Priprava 24-urne bakterijske kulture seva *S. Enteritidis* ŽM351

Za vsak poizkus smo pripravili 24-urno kulturo bakterij seva *S. Enteritidis* ŽM351. Iz trdnega gojišča TSA s kolonijami omenjenih bakterij smo precepili eno kolonijo na trdno gojišče TSA ter gojišče 24 ur inkubirali pri 37 °C. Eno kolonijo 24-urne kulture smo nato nacepili v 10 ml gojišča TSB, suspenzijo dobro premešali na namiznem mešalu ter jo 24 ur inkubirali na stresalniku pri 100 obr./min in pri 37 °C. Tako pripravljeno kulturo smo uporabili za umetno kontaminacijo jajc pred kuhanjem v aparatu Zlato jajce.

3.2.3 Določitev bakterij seva *S. Enteritidis* ŽM351

Kvantitativno smo bakterije seva *S. Enteritidis* ŽM351 določali v vsaki 24-urni kulturi v gojišču TSB po metodi opisani v standardu SIST EN ISO 4833 (2003). V vzorcih umetno kontaminiranih jajc pred kuhanjem, med kuhanjem in po določenem času kuhanja pri določeni središčni temperaturi smo salmonele določili kvalitativno v 10 g vzorca po metodi opisani v standardu SIST EN ISO 6579:2003/AC:2004 (2004).

3.2.3.1 Kvantitativna določitev bakterij seva *S. Enteritidis* ŽM351

Število bakterij seva *S. Enteritidis* ŽM351 smo določili v vsaki 24-urni kulturi teh bakterij v gojišču TSB.

Priprava gojišč

Uporabili smo trdna gojišča (TSA, TSAP, XLD). Gojišča smo pripravili in hranili po navodilih proizvajalcev in jih hranili v hladilniku. Nerazlito sterilizirano gojišče TSA smo do uporabe (24 - 48 ur) hranili pri 45 °C.

Priprava vzorca in določitev števila bakterij v vzorcu

V 9 ml sterilnega fosfatnega pufra smo dodali 1 ml vzorca, v katerem smo določali število bakterij, in vsebino premešali na namiznem mešalu. Razredčevanje vzorca smo ponovili po enakem postopku. Razredčitve vzorca smo cepili na ali v gojišče. Pri metodi razmazovanja smo na vnaprej razlito gojišče cepili 0,1 ml razredčitve vzorca, za metodo razlivanja smo 1 ml razredčitve vzorca umešali v stopljeno in na 45 °C ohlajeno gojišče. Vsako razredčitev vzorca smo nacepili na/v gojišče v treh paralelkah. Metodo razmazovanja na trdnem gojišču smo uporabili za določitev števila preživelih bakterij pri pasterizaciji v tistih primerih, ko smo uporabili selektivno gojišče XLD in neselektivno

gojišče TSA. Metodo vmešavanja smo uporabili za določitev števila preživelih bakterij pri pasterizaciji v primerih, ko smo uporabili gojišče TSAP. Gojišče TSA smo uporabili za določanje začetnega števila bakterij rodu *Salmonella*, gojišče TSAP pa za določanje preživelih bakterij po pasterizaciji. Gojišča smo v vseh primerih 24-48 ur inkubirali pri 37 °C.

Izračun števila bakterij v vzorcu

Po inkubaciji smo na gojišču prešteli kolonije ter izračunali število bakterij N (cfu/ml). Za gojišča z od 15 do 300 kolonijami smo uporabili enačbo 3.1:

$$N = \Sigma C / ((n1 + 0,1 n2) \times d) \quad (\dots 3.1)$$

Legenda: ΣC - seštevek vseh kolonij na števni ploščah, $n1$ - število kolonij pri prvi razredčitvi, $n2$ - število kolonij pri drugi razredčitvi, d - faktor razredčitve pri prvi upoštevani razredčitvi in N - število mikroorganizmov v cfu/ml.

Za gojišča z od 1 do 15 kolonijami smo uporabili enačbo 3.2:

$$NE = m \times d \quad (\dots 3.2)$$

Legenda: NE - število mikroorganizmov v 1 ml živila, m - aritmetična sredina števila kolonij na dveh ploščah in d – faktor razredčitve vzorca.

Rezultat smo podali kot število bakterij rodu *Salmonella* med 1,0 in 8,9 pomnoženo z 10^x , pri čemer pomeni x faktor razredčitve vzorca.

3.2.3.2 Kvalitativna določitev bakterij seva *S. Enteritidis* ŽM351

Kvalitativno metodo določitve bakterij seva *S. Enteritidis* ŽM351 smo povzeli po standardni metodi, opisani v standardu SIST EN ISO 6579:2003/AC:2004 (2004). Po kuhanju umetno kontaminiranih jajc z bakterijami seva *S. Enteritidis* ŽM351 smo od vsakega jajca odvzeli 10 g vzorca in ga sterilno prenesli v 90 ml obogatitvenega gojišča BPW. Nato smo suspenzijo homogenizirali in jo 24 ur inkubirali pri 37 °C. Po 24 urni inkubaciji smo suspenzijo precepili na selektivni gojiščici XLD ter Rambach ter ju 24 ur inkubirali pri 37 °C. Nato smo odčitali rezultat, ki je bil v primeru značilne rasti kolonij pozitiven oziroma v primeru neznačilne rasti ali v primeru, da kolonije niso zrasle, negativen v 10 g vzorca jajca. Salmonele tvorijo na gojišču XLD prosojne kolonije s črnim centrom, na gojišču Rambach pa so kolonije rožnato vijolične barve.

3.2.4 Kontaminacija jajc v lupini s 24-urno kulturo seva *S. Enteritidis* ŽM351

Kokošja jajca so bila pred eksperimenti vedno shranjena v hladilniku pri 4 °C do 5 °C. Pred vsakim eksperimentom smo jih predvideno število vzeli iz hladilnika in površino jajc razkužili z 96 % etanolom. Potem smo s svedrom naluknjali jajčno lupino tako, da smo lahko v jajce vstavili termometer ali jajce kontaminirali s salmonelami. Umetno smo jajca kontaminirali tako, da smo s sterilno brizgalko dodali v središče jajca 0,1 ml 24-

urne kulture *S. Enteritidis* ŽM351 (točka 3.2.2). Jajcem smo nato zapolnili odprtine s silikonskim kitom, da voda med kuhanjem ni mogla prodirati v notranjost jajc in s tem vplivati na spremembo središčne temperature. Pri vsakem eksperimentu smo poleg umetno kontaminiranih jajc uporabili tudi po eno nekontaminirano jajce enake velikosti in enake starosti, ki je služilo določitvi središčne temperature med kuhanjem. V to jajce smo ob začetku kuhanja vstavili sondo termometra, ki je bila priključena na merilni instrument-termometer Almemo, ta pa je bil priključen na računalnik prek konektorja, tako da je bilo mogoče spremljati segrevanje na monitorju. Uporabili smo lahko največ 4 sonde naenkrat.

3.2.5 Aparat Zlato jajce

3.2.5.1 Opis aparata Zlato jajce

Aparat Zlato jajce je uporaben izključno za pripravo kuhanih jajc in za vzdrževanje kuhanih jajc na določeni temperaturi do 6 ur (slika 4). Namenjen je za pripravo jajc in se ne sme uporabljati za druge namene (Kogast, 2006).



Slika 4: Aparat za kuhanje jajc Zlato jajce (Kogast, 2006)

Tehnični podatki:

Dimenzije: širina: 510 mm, višina: 630(660) mm; dimenzija košare: 200 x 110 mm

Nazivna moč: 3314 W

Električni priključek: 230V AC

Jakost toka: 14,4 A

Masa: 22/26 kg (neto/bruto)

Opis pomembnih delov aparata- delovanje

Izbirno stikalo

Izbirno stikalo je namenjeno izbiri trajanja kuhanja jajc. Z različno pozicijo izbirnega stikala izberemo potrebno dolžino termične obdelave, ki je odvisna od velikosti jajc:

- Velikost A, velika jajca: 71 – 80 g, preklop stikala v položaj s tremi piski
- Velikost B, srednje velika jajca: 61 – 70 g, preklop stikala v položaj z dvema piskoma
- Velikost C, mala jajca: 51 - 60 g, preklop stikal v položaj z enim piskom

Prelivna cev

Če pri nalivanju vode v posodo nismo pozorni in glasen signal »DOVOLJ VODE« preslišimo in nadaljujemo z nalivanjem vode, začne voda teči čez prelivno cevko na površino pod aparatom.

Filter

Filter je vstavljen v ležišče sesalnega dela notranje posode. Preprečuje vstop nečistoč v sistem in s tem omogoča pravilno delovanje aparata. Filter je potrebno občasno očistiti kljub temu, da je v aparat vstavljena posebna naprava proti nabiranju vodnega kamna. Če filtra ni, se v sistemu lahko nabirajo nečistoče, kot so na primer lupine poškodovanih jajc. Odstranjevanje večjih mehanskih delcev iz črpalk, ventila, hladilnika in iz sistema cevi je zahteven servisni poseg. Zato naj bo filter vedno čist in naj bo na ustreznem mestu.

Vstop hladilnega zraka

Hladilni zrak je pomemben za ohlajanje pretočnega hladilnika. V njem se ohlaja hladilna voda iz zunanje posode. Za zadostno hlajenje je potrebno upoštevati navodila. Zrak ob vstopu v hladilnik naj bo čim hladnejši.

Izstop segretega zraka

Neoviran izstop segretega zraka je tudi pomemben za dobro hlajenje hladilne vode.

3.2.5.2 Delovanje aparata Zlato jajce

Delovanje aparata za kuhanje jajc vsebuje več faz:

Faza 1: mirovanje

Faza 2: kuhanje jajc do signala »JAJCA SO KUHANA«

Faza 3: ogrevanje jajc do največ 6 ur

Faza 4: praznjenje sistema

1. Mirovanje

V mirovanju se z aparatom ne dogaja nič. V primeru pritiska na večnamenski gumb ali dviga pokrova naprava »oživi« in prične dajati ustrezne signale, ki so odvisni od trenutnega stanja aparata. Signali trajajo 10 sekund. Pri dvignjenem pokrovu so signali ves čas aktivni.

- Če je v aparatu premalo vode, gori rdeča kontrolna lučka.

Potrebno je naliti vodo v notranjo posodo do preliva in še naprej, dokler se ne pojavi zvočni signal »VODE JE DOVOLJ« (sekundo trajajoč pisk). Kontrolna lučka »PREMALO VODE« ugasne. Po pisku nemudoma prenehamo z nalivanjem vode, da se v zunanjo posodo ne prelije preveč vode. Če z nalivanjem vode nadaljujemo, začne voda teči skozi prelivno cevko, ki je nameščena v notranjosti naprave, na površino pod aparatom.

- Če je v aparatu prevroča voda, gori rdeča kontrolna lučka.

Počakamo par minut. Hladilni sistem ohlaja vodo. Aparat je pripravljen za delovanje, ko vodo ohladi na predpisano temperaturo.

- Če so nivoji vode v aparatu ustrezni in če voda ni prevroča, je aparat pripravljen na začetek kuhanja

S kuhanjem jajc pričnemo tako, da pritisnemo in držimo večnamenski gumb do prvega piska ter ga nato spustimo.

2. Kuhanje jajc do signala »JAJCA SO KUHANA«

Ko je v aparatu dovolj ustrezno hladne vode, v notranjo posodo vložimo košaro z jajci, zapremo pokrov in vključimo kuhanje (pritisnemo tipko do prvega piska). Jajca naj bodo iz hladilnika oz. ohlajena na približno 5 °C.

Ob vklopu kuhanja zagori rdeča kontrolna lučka in gori do konca termične obdelave vloženi jajc.

V tem času ne smemo dvigovati pokrova aparata. Dvignjen pokrov posode, ko je voda v notranji posodi segreti nad 56 °C ali več, spremlja glasen pisk. Če pritisnemo večnamenski gumb in ga držimo do drugega piska, preide aparat v stanje mirovanja.

Postopek termične obdelave vloženi jajc poteka samodejno in traja 19 do 24 minut (odvisno od začetne temperature vode v notranji posodi).

3. Ogrevanje jajc do največ 6 ur

Ko čas kuhanja poteče, aparat samodejno preide v stanje ogrevanja jajc. Ob prehodu aparata v stanje ogrevanja jajc, se prižge zelena kontrolna lučka, ki gori, dokler aparata ne preklopimo v stanje mirovanja.

V tem stanju so jajca ustrezno pripravljena. V primeru, da je pokrov dvignjen ni nevarnosti za kvaliteto vloženi jajc.

Če pritisnemo večnamenski gumb in ga držimo do drugega piska, preide aparat v stanje mirovanja.

4. Praznjenje sistema (menjava vode)

Če želimo sistem izprazniti, najprej izvlečemo gumijasto cev, ki se nahaja na dnu aparata. Cev namestimo v primerno posodo (vsaj 20 l) in s priloženim ključem odpremo oba izpustna ventila. Ko smo aparat izpraznili, oba izpustna ventila zapremo.

Vodo v aparatu je iz higienskih razlogov potrebno zamenjati vsak dan!

Čiščenje in vzdrževanje

Aparat za kuhanje čistimo vsakodnevno. Postopek je sledeč:

- Aparat izklopimo in počakamo, da se ohladi

- Izpustimo vodo iz sistema
- Notranjo posodo in druge površine očistimo z mokro krpo, katero smo pred čiščenjem namočili v topli vodi ali v razredčenem detergentu. Površine, ki jih čistimo z detergentom, nato izperemo s čisto vodo.
- Z ležišča na sesalnem delu notranje posode vzamemo filter in ga previdno očistimo. Po čiščenju ga vstavimo nazaj.
- Pred ponovno uporabo površine aparata temeljito osušimo

3.2.5.2 Kuhanje jajc v aparatu Zlato jajce

Kuhanje jajc z aparatom Zlato jajce smo izvedli po navodilih proizvajalca (Navodila za uporabo..., 2006).

Aparat je bil med potekom eksperimenta priključen na računalnik tako, da je bil celoten postopek toplotne obdelave jajc računalniško voden. Program Egg Cooker Evaluator, V 3.2 za upravljanje z aparatom Zlato jajce je napisal doc.dr. Marjan Jenko.

Program omogoča regulacijo temperature vode oziroma grelca, krmili črpalke in ustrezne ventile. Zato omogoča zelo natančno temperaturno regulacijo, ki je neodvisna od količine jajc v napravi. Ker gre za zelo natančno regulacijo, je vsak aparat v proizvodnji umerjen za zelo natančno merjenje temperature, in končni rezultat je, da temperaturna regulacija drži temperaturo vode in jajc znotraj $\pm 0,2$ °C. Program omogoča osnovno mehko kuhanje in pasterizacijo, interakcijo z uporabnikom in servisne funkcije (polnjenje, praznjenje, diagnostika napak).

Najprej smo aparat priključili na električno omrežje. Če se je prižgala mala rdeča kontrolna lučka, ki označuje nizek nivo vode v posodi, smo v posodo nalili hladno vodo in pazili smo na prelivanje vode. Zvočni signal in izklop rdeče kontrolne lučke je pomenil zadostno količino vode v aparatu. Pri tem morata biti oba izstopna ventila na spodnji strani aparata zaprta. Glede na velikost jajc smo nato na stikalu izbrali stopnjo kuhanja (velika ali srednja ali mala jajca). V košaro se lahko vloži do 30 ohlajenih jajc. Pri našem eksperimentalnem delu smo uporabljali poseben nosilec za jajca, v katerega smo lahko vložili 4 jajca. Košaro oziroma nosilec smo nato položili v aparat, zaprli pokrov in pritisnili tipkalo na spodnji strani aparata. Tako se je začel postopek kuhanja, ki je bil označen tudi s prižgano veliko rdečo kontrolno lučko. Kuhanje je trajalo približno 20 minut. Če bi med kuhanjem odprli pokrov pri temperaturi vode nad 56 °C, bi aparat oddal glasen zvočni signal, ki bi nas opozoril, da moramo pokrov zapreti. Ko so bila jajca kuhana do zelene središčne temperature, smo eksperiment zaključili ali pa pustili, da jih je aparat ogreval samodejno do 1 ure. Ta del kuhanja je vizualno prikazan s prižigom zelene kontrolne lučke. Aparat smo izklopili s pritiskom na tipkalo in ko smo zaslišali drugi pisk, smo tipkalo spustili. Ko je velika zelena lučka ugasnila, je bil aparat izklopljen.

Čiščenje:

Aparat smo čistili izključno z mokro mehko krpo. Filter pri cevnem grelniku smo dnevno sneli in očistili. Vodo v posodi smo menjali vsak dan. Na spodnji strani aparata smo

izvlekli gibko cev in prosti konec speljali v ustrezno posodo (20 l) ter odprli oba ventila, ki se nahajata na spodnji strani aparata, ter izpustili vodo.

3.2.6 Meritve središčne temperature jajca in temperature vode med segrevanjem jajc v aparatu Zlato jajce

Med eksperimentalnim delom smo merili središčno temperaturo jajc (T_s) in temperaturo vode (T_v). Temperaturo vode smo spremljali vedno ne glede na način segrevanja vode. V prvem delu eksperimentov smo segrevali vodo sočasno s segrevanjem jajc, medtem ko smo v drugem delu uporabili za segrevanje jajc že vnaprej segreto vodo – eksperimenti pri konstantni temperaturi vode.

V prvem delu poskusa smo določili temperaturne parametre segrevanja jajc različnih velikosti (S, M, L in XL) v aparatu Zlato jajce. Jajca smo segrevali ob sočasnem segrevanju vode do središčne temperature jajc $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, in sicer tako, da smo segrevanje jajc začeli enkrat pri sobni temperaturi jajc in drugič pri temperaturi hladilnika. Merjenje središčne temperature jajc je potekalo tako, da smo v dve jajci vstavili sonde za meritev središčne temperature, hkrati pa smo spremljali tudi temperaturo vode. Vse meritve smo spremljali na računalniku in jih po zaključku vsakega eksperimenta shranili za kasnejšo obdelavo podatkov.

V drugem delu smo segrevali jajca različnih velikosti (S, M, L in XL) do središčne temperature jajc $64\text{ }^{\circ}\text{C}$ pri konstantni temperaturi vode ($70\text{ }^{\circ}\text{C}$). Ob začetku segrevanja so imela jajca temperaturo hladilnika. V tem delu smo eksperiment ponovili za štiri različne starosti jajc (12, 19, 27 in 34 dni). Postopek merjenja temperature je bil enak kot pri prvem delu poskusa s to razliko, da se temperatura vode ni spreminjala.

V tretjem delu poskusa smo merili središčno temperaturo v jajcih kontaminiranih z bakterijami seva *S. Enteritidis* ŽM351. Meritve smo opravljali tako, da smo pri vsakem eksperimentu v aparatu Zlato jajce uporabili poleg umetno z bakterijami seva *S. Enteritidis* ŽM351 kontaminiranih jajc tudi eno nekontaminirano jajce, ki je služilo spremljanju središčne temperature. To jajce je bilo enakega velikostnega razreda kot umetno kontaminirana jajca. Pomembno je bilo, da so bila jajca pred vsakim eksperimentom ustrezno ohlajena ($5\text{ }^{\circ}\text{C}$) tako, da se je segrevanje začelo pri približno enaki temperaturi za vsa vložena jajca. V aparat Zlato jajce smo med eksperimenti vložili po 2 kontaminirani jajci in 1 nekontaminirano jajce, ki je bilo v posebnem stojalu tako, da smo v sredino jajca lahko postavili sondo za spremljanje temperature. Temperatura vode v aparatu Zlato jajce pred pričetkom segrevanja je bila vedno približno $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ v primerih, ko smo jajca in vodo segrevali sočasno. V primerih, ko smo jajca segrevali s konstantno temperaturo vode, je bila le-ta $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ in takrat smo počakali, da se je po segrevanju temperatura vode ustalila in ni več nihala. Ko smo pričeli s segrevanjem jajc, smo spremljali središčno temperaturo jajca in ko je le-ta dosegla zeleno središčno temperaturo ($60\text{ }^{\circ}\text{C}$ oz. $64\text{ }^{\circ}\text{C}$), smo kontaminirani jajci vzeli iz aparata in v njih določili preživelost bakterij seva *S. Enteritidis* ŽM351. Nato smo kuhanje ponovili še dvakrat; prvič smo

kontaminirani jajci vzorčili po 10 minutah kuhanja na želeni središčni temperaturi in drugič po 1 uri zadrževanja jajc na določeni temperaturi.

Temperaturo vode smo merili pri vsakem eksperimentu na enak način kot središčno temperaturo jajc z razliko, da smo sondo termometra vstavil direktno v vodo ter na monitorju odčitavali temperaturo.

Središčno temperaturo jajca in temperaturo vode smo med eksperimentom spremljali na monitorju in hkrati shranili v poseben dokument na računalniku, s pomočjo katerega je bilo vodeno segrevanje. Meritve temperatur so bile zelo pogoste – vsako sekundo smo dobili po dva podatka, in sicer za temperaturo vode in za središčno temperaturo jajca. Glede na opravljene meritve smo določili temperaturne parametre segrevanja jajc.

3.2.7 Določitev in primerjava temperaturnih parametrov segrevanja jajc

Po opravljenem segrevanju jajc v aparatu Zlato jajce smo meritve temperature vode in središčne temperature jajc, ki sta jih termometra beležila v intervalu ene sekunde, uredili v kolone in dodali pripadajoči čas za določeno temperaturo in določili temperaturne parametre kot jih navaja Palazoglu (2006).

Iz dobljenih podatkov smo za vsako meritev temperature izračunali naravni logaritem kvocienta razlik središčne temperature jajca in temperature vode:

$$\ln\left(\frac{T_s - T_v}{T_{so} - T_v}\right) \quad (\dots 3.3)$$

Legenda:

T_s središčna temperatura jajca (°C)

T_v temperatura vode (°C)

T_{so} začetna središčna temperatura jajca (°C)

Nato smo za vsak eksperiment narisali krivuljo kot odvisnost naravnega logaritma kvocienta razlik temperatur od časa segrevanja t (s), saj se koeficient prenosa toplote določenega dela jajca lahko določi le iz linearnega dela omenjene krivulje (Palazoglu, 2006).

Zato smo pri vsaki krivulji za določitev koeficienta prenosa toplote uporabili tiste podatke, ki so nam dali kar najbolj linearno povezavo med naravnim logaritmom kvocienta razlik temperatur in časom segrevanja. Stopnjo linearne povezanosti smo določili s koeficientom korelacije (R^2), ki naj bi bil čim bližje 1. Nato smo izračunali premico v obliki:

$$Y = k \times X \quad \text{oziroma} \quad \ln\left(\frac{T_s - T_v}{T_{so} - T_v}\right) = k \times t \quad (\dots 3.4)$$

Legenda:

T_s	središčna temperatura jajca ($^{\circ}\text{C}$)
T_v	temperatura vode ($^{\circ}\text{C}$)
T_{so}	začetna središčna temperatura jajca ($^{\circ}\text{C}$)
k	naklon premice kot koeficient prenosa toplote (s^{-1})
t	čas segrevanja (s)

Iz dobljenih premic smo glede na naklon posamezne premice določili koeficient prenosa toplote k (s^{-1}) kot temperaturni parameter segrevanja jajc (Grijspeerdt in Herman, 2003).

Ker smo želeli določiti ali velikosti jajc, starost jajc, način segrevanja jajc (pri konstantni temperaturi vode ali pri sočasnem segrevanju vode) in začetna temperatura jajc vplivajo na segrevanje določenega dela jajca, smo za vse omenjene vplive določili koeficient prenosa toplote določenega dela jajca in te koeficiente statistično primerjali (Grijspeerdt in Herman, 2003). Grijspeerdt in Herman (2003) namreč navajata, da je vrednost k tisti parameter, s katerim lahko primerjamo različne načine segrevanja jajc.

Za statistično primerjavo smo izračunane koeficiente prenosa toplote (k) različnih eksperimentov uredili s programom EXCEL XP. Tako urejene podatke smo statistično primerjali z računalniškim programom SAS (SAS Software. Version 8.01, 1999) s proceduro GLM (General Linear Models).

Uporabili smo statistične modele, ki so opisani v nadaljevanju. Pri vseh modelih so bili povprečni koeficienti prenosa toplote za eksperimentalne skupine izračunani z uporabo Duncanovega testa in primerjani pri 5 % tveganju.

Statistični model za analizo vrednosti k pri segrevanju jajc z sočasnim segrevanjem vode je vključeval vpliv štirih velikosti jajc (V_i).

$$Y_{ij} = \mu + V_i + e_{ij} \quad (\dots 3.5)$$

Legenda: y_{ij} - ij – to opazovanje, μ - povprečna vrednost, V_i – vpliv velikosti jajc (S, M, L, XL) in e_{ij} - ostanek

Statistični model za analizo vrednosti k pri segrevanju jajc z sočasnim segrevanjem vode je vključeval vpliv dveh začetnih temperatur jajc (T_i).

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij} \quad (\dots 3.6)$$

Legenda: y_{ij} - ij – to opazovanje, μ - povprečna vrednost, T_i – vpliv začetne temperature jajca (sobna temperatura, 5°C) in e_{ij} - ostanek

Statistični model za analizo vrednosti k pri segrevanju jajc pri konstantni temperaturi vode je vključeval vpliv velikosti jajc (V_i) in starosti jajc (S_j).

$$Y_{ijk} = \mu + V_i + S_j + e_{ijk} \quad (\dots 3.7)$$

Legenda: y_{ij} - ij – to opazovanje, μ - povprečna vrednost, V_i – vpliv velikosti jajc (S, M, L, XL) S_i – vpliv starosti jajc (12,19, 27, 34 dni) in e_{ij} - ostanek

Statistični model za analizo vrednosti k pri segrevanju jajc je vključeval vpliv načina segrevanja jajc (N_i).

$$Y_{ij} = \mu + N_i + e_{ij} \quad (\dots 3.8)$$

Legenda: y_{ij} - ij – to opazovanje, μ - povprečna vrednost, V_i – vpliv načina segrevanja jajc (sočasno segrevanje jajc in vode, segrevanje pri konstantni temperaturi vode) in e_{ij} - ostanek.

4 REZULTATI

Eksperimentalno delo smo izvedli v dveh delih. Najprej smo ugotavljali, kako se segrevajo jajca različnih velikosti (S, M, L in XL) in različnih starosti pri sočasnem segrevanju vode in nato pri konstantni temperaturi vode 70 °C do središčne temperature jajca 60 °C. Jajca so imela začetno temperaturo v prvem delu enako sobni temperaturi, v drugem delu pa temperaturi hladilnika. Iz dobljenih podatkov smo določili parametre segrevanja jajc različne teže in starosti pri sočasnem segrevanju vode in pri konstantni temperaturi vode.

Nato smo v drugem delu določali preživelost bakterij seva *S. Enteritidis* ŽM351 v umetno kontaminiranih jajcih pri različnih središčnih temperaturah (60 °C, 64 °C) in v različnih časovnih intervalih kuhanja (v času, ko je središčna temperatura dosegla želeno vrednost, po 10 minutah zadrževanja jajc na izbrani središčni temperaturi ter po 60 minutah zadrževanja jajc na določeni središčni temperaturi). Uporabili smo jajca velikosti XL različnih starosti in jajca velikosti M stara več kot 30 dni.

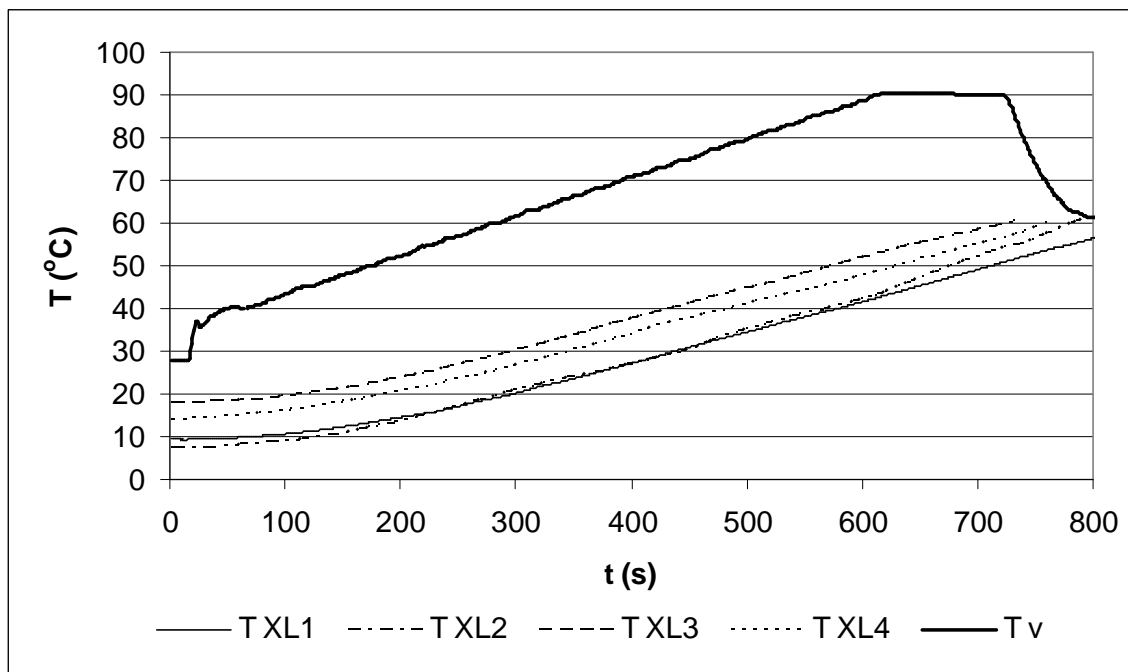
4.1 SPREMLJANJE SEGREVANJA JAJC DO T_s 60 °C PRI SOČASNEM SEGREVANJU VODE

4.1.1 Spremljanje segrevanja jajc od začetne sobne temperature

Jajca velikosti S, M, L in XL smo segrevali v aparatu Zlato jajce in pri tem spremljali središčno temperaturo jajc in temperaturo vode, ki se je segrevala sočasno. V tem eksperimentalnem delu so imela jajca začetno temperaturo enako sobni temperaturi. Namen teh eksperimentov je bil ugotoviti, ali različna velikost jajc vpliva na parametre segrevanja jajc.

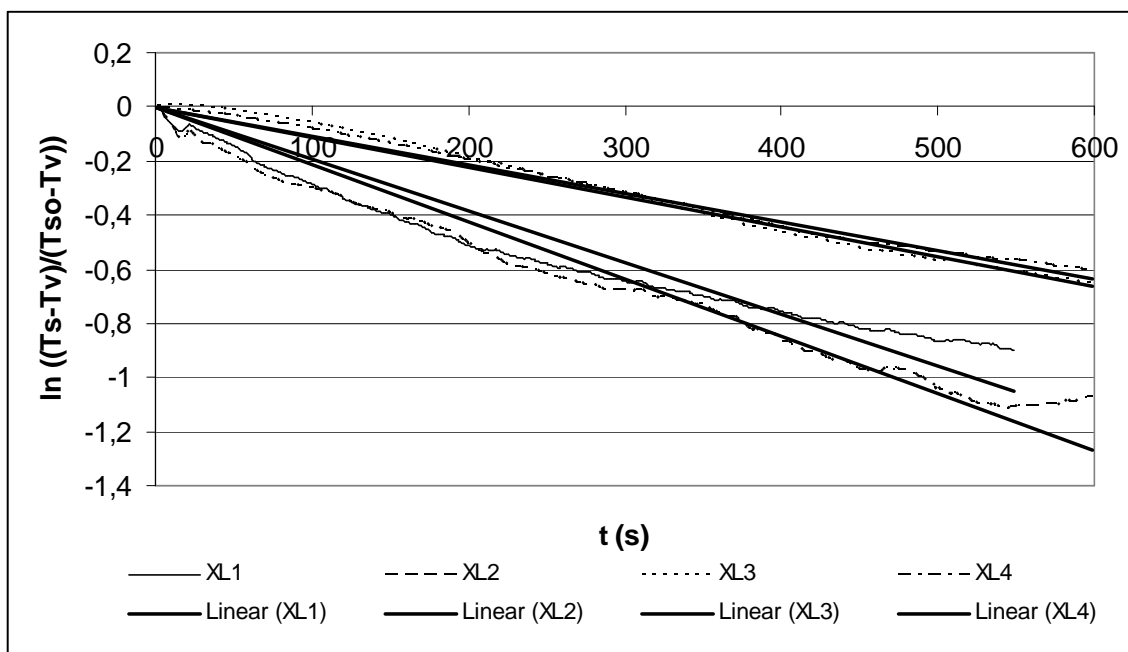
Slika 5 prikazuje kot primer potek segrevanja štirih jajc velikosti XL od sobne temperature do T_s 60 °C pri sočasnem segrevanju vode in jajc. Prikazane so središčne temperature jajc in vzporedne meritve temperature vode v aparatu Zlato jajce.

Slika 6 prikazuje linearen del segrevanja štirih jajc velikosti XL od sobne temperature do T_s 60 °C pri sočasnem segrevanju vode in jajc. Na sliki 6 so podatki prikazani kot odvisnost naravnega logaritma kvocienta razlik središčne temperature jajca in temperature vode od časa kot navaja Palazoglu (2006).



Slika 5: Segrevanje jajc velikosti XL od sobne temperature do T_s 60 °C pri sočasnem segrevanju vode

Legenda: T_{XL1} (2, 3, 4) – središčna temperatura jajca 1 (2, 3, 4), T_v – temperatura vode



Slika 6: Linearen del segrevanja jajc velikosti XL od sobne temperature do T_s 60°C pri sočasnem segrevanju vode

Legenda: T_v - temperatura vode (°C), T_s - središčna temperatura jajca (°C), T_{so} - začetna središčna temperatura jajca (°C), $XL1$ (2, 3, 4) – logaritem kvocienta razlik središčne temperature jajca in temperature vode jajca 1 (2, 3, 4) velikosti XL, linear – izračunani linearni del segrevanja jajca

Rezultate meritev segrevanja jajc velikosti S, M, L in XL do središčne temperature 60 °C ob sočasnem segrevanju vode smo združili v preglednici 1. Poleg mase jajc so prikazani parametri segrevanja jajc in sicer čas, ki je bil potreben, da je središčna temperatura dosegla 60 °C, območje za izračun linearnega dela segrevanja dela jajca ter izračun premic po enačbi 3.4. Območje za izračun premice je najbolj linearen del segrevanja posameznega jajca, ki smo ga upoštevali za izračun koeficienta prenosa toplote. Zato smo vzeli tisti del krivulje na katerem je bil R^2 najbližje vrednosti 1. Iz premic smo določili koeficiente prenosa toplote kot vrednosti k (s^{-1}).

Rezultati segrevanja jajc različnih velikosti od sobne temperature do središčne temperature 60 °C kažejo, da velikost oz. masa jajc ni vplivala na čas, ki je bil potreben, da se jajce segreje do središčne temperature 60 °C (preglednica 1), saj so se najmanjša jajca velikosti S, ki so imela povprečno maso 48,19 g segrevala v povprečju dalj časa kot največja jajca, ki so imela v povprečju maso 71,38 g.

Preglednica 1: Segrevanje jajc velikosti S, M, L in XL od sobne temperature do T_s 60 °C pri sočasnem segrevanju vode

Oznaka jajca	Masa (g)	Čas do T_s 60 °C (s)	Časovno območje za izračun (s)	Premica
S1	49,36	574	30-592	$y = -0,002x, R^2 = 0,942$
S2	46,15	836	0-600	$y = -0,001x, R^2 = 0,873$
S3	49,72	783	0-600	$y = -0,009x, R^2 = 1,000$
S4	47,51	905	0-600	$y = -0,006x, R^2 = 0,982$
Povprečje	48,19	775	/	/
M1	61,37	610	0-500	$y = -0,002x, R^2 = 1,000$
M2	60,42	662	0-500	$y = -0,001x, R^2 = 0,900$
M3	60,29	596	0-500	$y = -0,002x, R^2 = 0,997$
M4	61,61	653	0-500	$y = -0,002x, R^2 = 0,941$
Povprečje	60,92	630	/	/
L1	64,60	760	0-700	$y = -0,001x, R^2 = 0,980$
L2	63,39	850	0-700	$y = -0,001x, R^2 = 0,966$
L3	66,19	762	0-700	$y = -0,010x, R^2 = 0,992$
L4	62,82	634	0-550	$y = -0,017x, R^2 = 0,888$
Povprečje	64,25	752	/	/
XL1	71,00	574	0-550	$y = -0,002x, R^2 = 0,880$
XL2	71,69	523	0-600	$y = -0,002x, R^2 = 0,952$
XL3	71,45	734	0-600	$y = -0,001x, R^2 = 0,982$
XL4	71,39	760	0-600	$y = -0,001x, R^2 = 0,991$
Povprečje	71,38	648	/	/

Legenda: S, M, L, XL – velikost jajc, T_s – središčna temperatura jajca, R^2 – korelacijski koeficient

Glede na meritve temperature vode in jajc smo povprečne vrednosti koeficienta prenosa toplote (k) jajc velikosti S, M, L in XL tudi statistično primerjali (enačba 3.5). Ugotovili

smo, da velikost jajc pri sočasnem segrevanju vode in jajc nima vpliva na povprečno vrednost koeficienta prenosa toplote jajca (preglednica 2).

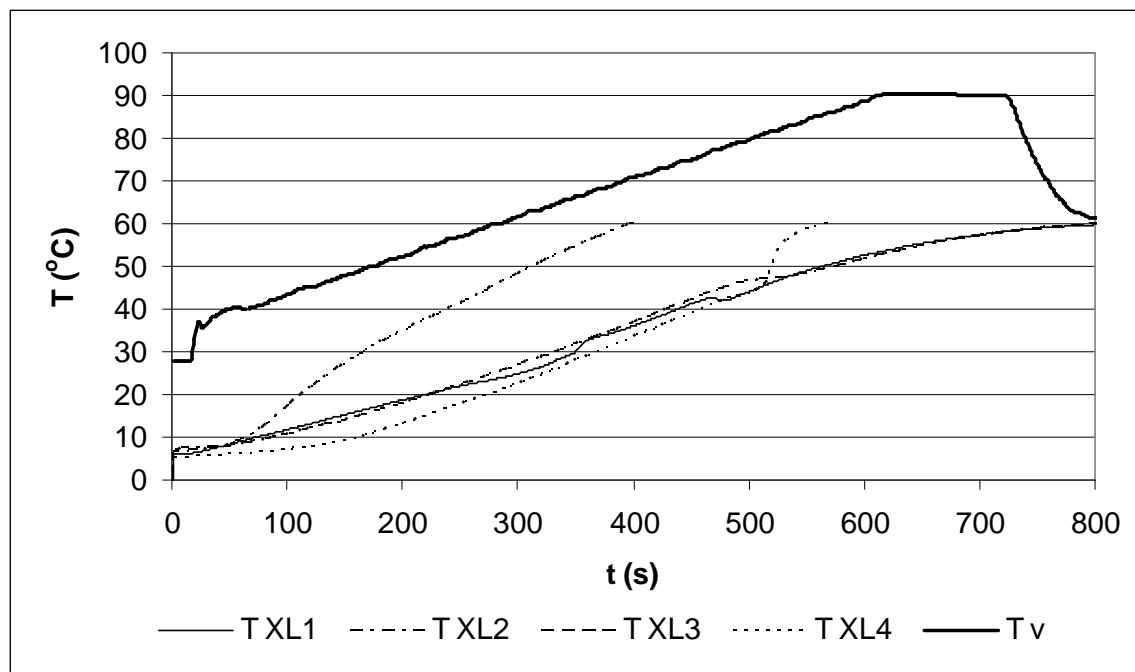
Preglednica 2: Vpliv velikosti jajc na povprečno vrednost k pri segrevanju jajc od sobne temperature do T_s , 60 °C pri sočasnem segrevanju vode in jajc

Velikost jajc	Št. ponovitev	Povprečen k (s ⁻¹)
S	4	- 0,004 ^A
M	4	- 0,002 ^A
L	4	- 0,007 ^A
XL	4	- 0,002 ^A

Legenda: S, M, L, XL – velikost jajc, k - koeficient prenosa toplote; vrednosti k z enako črko se med seboj statistično ne razlikujejo ($P > 0,05$)

4.1.2 Spremljanje segrevanja jajc od začetne temperature hladilnika

Jajca velikosti S, M, L in XL smo segrevali v aparatu Zlato jajce in spremljali temperaturo vode ter središčno temperaturo jajc. Namen tega dela je bil ugotoviti, ali različna velikost jajc vpliva na parametre segrevanja jajc v primerih, ko je začetna temperatura jajc enaka temperaturi hladilnika.

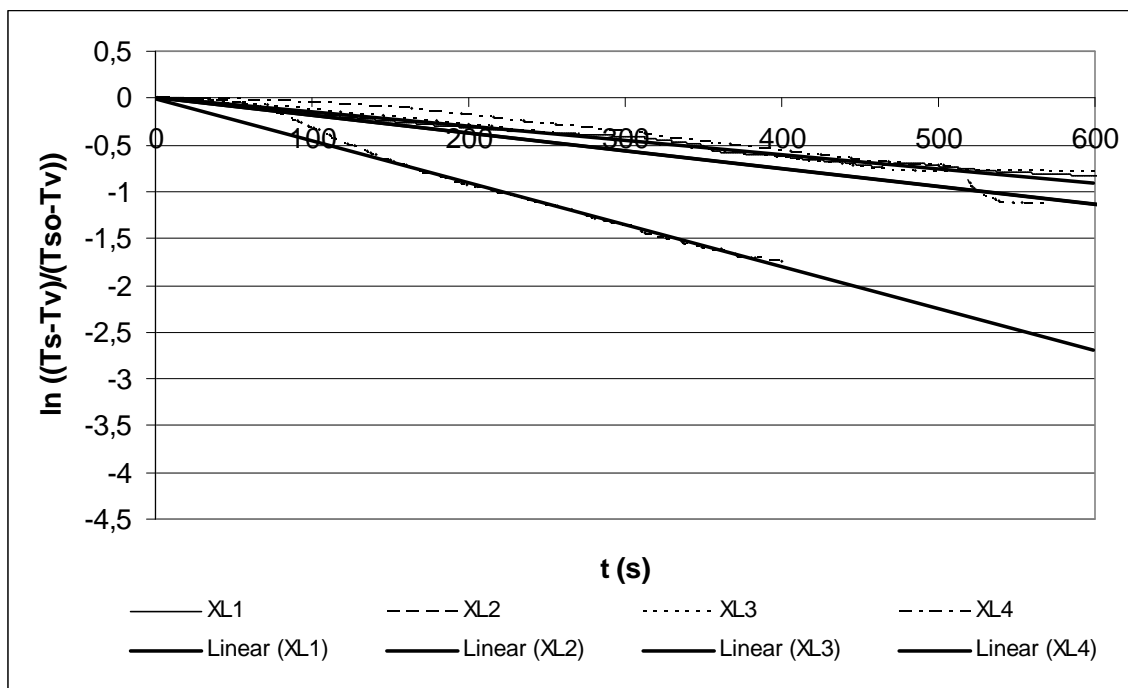


Slika 7: Segrevanje jajc velikosti XL od temperature hladilnika do T_s , 60 °C pri sočasnem segrevanju vode

Legenda: T XL1 (2, 3, 4) – središčna temperatura jajca 1 (2, 3, 4), T_v – temperatura vode

Slika 7 prikazuje kot primer potek segrevanja štirih jajc velikosti XL od temperature hladilnika do T_s 60 °C pri sočasnem segrevanju vode in jajc. Prikazane so središčne temperature jajc in vzporedne meritve temperature vode v aparatu Zlato jajce.

Slika 8 prikazuje linearen del segrevanja štirih jajc velikosti XL od temperature hladilnika do T_s 60 °C pri sočasnem segrevanju vode in jajc. Na sliki 6 so podatki prikazani kot odvisnost naravnega logaritma kvocienta razlik središčne temperature jajca in temperature vode od časa kot navaja Palazoglu (2006).



Slika 8: Linearen del segrevanja jajc velikosti XL od temperature hladilnika do T_s 60 °C pri sočasnem segrevanju vode

Legenda: T_v - temperatura vode (°C), T_s - središčna temperatura jajca (°C), T_{so} - začetna središčna temperatura jajca (°C), XL1 (2, 3, 4) – logaritem kvocienta razlik središčne temperature jajca in temperature vode jajca 1 (2, 3, 4) velikosti XL, linear – izračunani linearni del segrevanja jajca

V preglednici 3 so prikazani rezultati segrevanja različno velikih jajc S, M, L in XL od začetne temperature hladilnika do središčne temperature 60 °C ob sočasnem segrevanju vode. Na desni strani preglednice je opisan čas v katerem jajce doseže T_s , območje za izračun najbolj linearnega dela segrevanja posameznega jajca ter izračunane premice za določitev koeficienta prenosa toplote jajca (k). Za izračun premic smo upoštevali tisti del krivulje na katerem je R^2 najbližje vrednosti 1.

Rezultati segrevanja jajc različnih velikosti od temperature hladilnika do središčne temperature 60 °C kažejo, da velikost oz. masa jajc ni vplivala na čas, ki je bil potreben, da se jajce segreje do središčne temperature 60 °C (preglednica 3), saj so se na primer največja jajca velikosti XL, ki so imela povprečno maso 74,19 g segrevala v povprečju

manj časa kot jajca velikosti L ali M; najmanjša jajca s povprečno maso 54,86 g so bila segreta najhitreje.

Preglednica 3: Segrevanje jajc velikosti S, M, L in XL od temperature hladilnika do T_s , 60 °C pri sočasnem segrevanju vode

Oznaka jajca	Masa (g)	Čas do T_s , 60 °C (s)	Časovno območje za izračun (s)	Premica
S1	53,90	0-418	470	$y = -0,002x$, $R^2 = 0,993$
S2	56,19	0-418	477	$y = -0,002x$, $R^2 = 0,978$
S3	55,58	0-420	481	$y = -0,002x$, $R^2 = 0,995$
S4	53,78	0-445	458	$y = -0,002x$, $R^2 = 0,988$
Povprečje	54,86	425	/	/
M1	53,78	0-650	652	$y = -0,002x$, $R^2 = 0,944$
M2	57,12	0-650	993	$y = -0,001x$, $R^2 = 0,880$
M3	56,24	0-650	754	$y = -0,001x$, $R^2 = 0,985$
M4	55,53	0-650	672	$y = -0,001x$, $R^2 = 0,994$
Povprečje	55,67	650	/	/
L1	65,23	0-700	803	$y = -0,001x$, $R^2 = 0,991$
L2	62,41	0-600	1007	$y = -0,001x$, $R^2 = 0,866$
L3	66,92	0-700	758	$y = -0,002x$, $R^2 = 0,987$
L4	62,56	0-700	715	$y = -0,001x$, $R^2 = 0,987$
Povprečje	64,28	675	/	/
XL1	75,56	0-450	804	$y = -0,001x$, $R^2 = 0,939$
XL2	75,56	0-391	391	$y = -0,003x$, $R^2 = 0,986$
XL3	73,62	0-450	782	$y = -0,001x$, $R^2 = 0,901$
XL4	72,07	0-450	554	$y = -0,001x$, $R^2 = 0,827$
Povprečje	74,19	435	/	/

Legenda: S, M, L, XL – velikost jajc, T_s – središčna temperatura jajca, R^2 – korelacijski koeficient

Povprečne vrednosti koeficienta prenosa toplote jajc velikosti S, M, L in XL smo statistično primerjali (enačba 3.5). Ugotovili smo, da velikost jajc pri sočasnem segrevanju vode in jajca nima vpliva na povprečno vrednost k jajca (preglednica 4).

Preglednica 4: Vpliv velikosti jajc na vrednost k pri segrevanju jajc od T hladilnika do T_s , 60 °C pri sočasnem segrevanju vode in jajc

Velikost jajc	Št. ponovitev	Povprečen k (s^{-1})
S	4	- 0,002 ^A
M	4	- 0,001 ^A
L	4	- 0,001 ^A
XL	4	- 0,001 ^A

Legenda: S, M, L, XL – velikost jajc, k - koeficient prenosa toplote; vrednosti k z enako črko se med seboj statistično ne razlikujejo ($P > 0,05$)

Začetna temperatura jajca nima vpliva na koeficient prenosa toplote jajca v primerih, ko smo jajca z začetno temperaturo hladilnika (7 °C) in jajca z začetno sobno temperaturo segrevali do središčne temperature 60 °C s sočasnim segrevanjem vode (preglednica 5).

Preglednica 5: Vpliv začetne temperature jajca (sobna temperatura in temperatura hladilnika) na vrednost k pri sočasnem segrevanju vode in jajc do T_s 60 °C

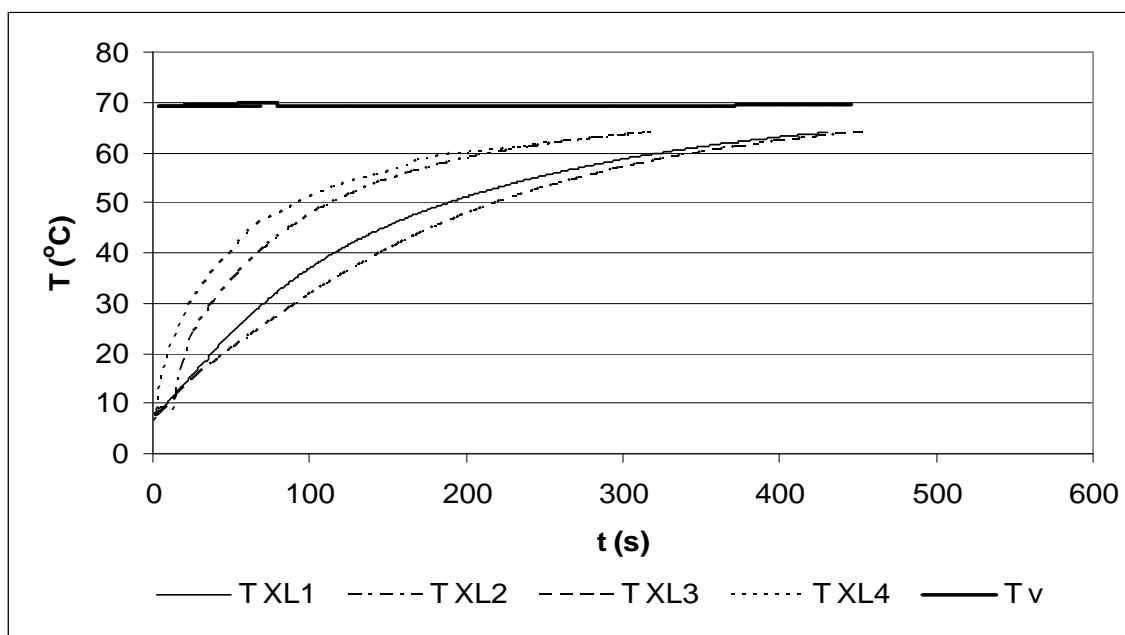
$T_{\text{začetna}}$	Št. ponovitev	Povprečen k (s^{-1}) pri velikosti jajca			
		S	M	L	XL
Sobna	4	- 0,004 ^A	- 0,002 ^A	- 0,007 ^A	- 0,002 ^A
Hladilnik	4	- 0,002 ^A	- 0,001 ^A	- 0,001 ^A	- 0,001 ^A

Legenda: S, M, L, XL – velikost jajc, k - koeficient prenosa toplote; vrednosti k z enako črko se med seboj statistično ne razlikujejo ($P > 0,05$)

4.2 SPREMLJANJE SEGREVANJA JAJC DO T_s 64 °C PRI KONSTANTNI TEMPERATURI VODE

4.2.1 Spremljanje segrevanja jajc od začetne temperature hladilnika

Jajca velikosti S, M, L in XL smo segrevali v aparatu Zlato jajce in spremljali temperaturo vode ter središčno temperaturo jajc. Namen tega dela je bil ugotoviti, ali različna velikost jajc vpliva na parametre segrevanja jajc, ko se le-ta segrevajo pri konstantni temperaturi vode (70 °C).

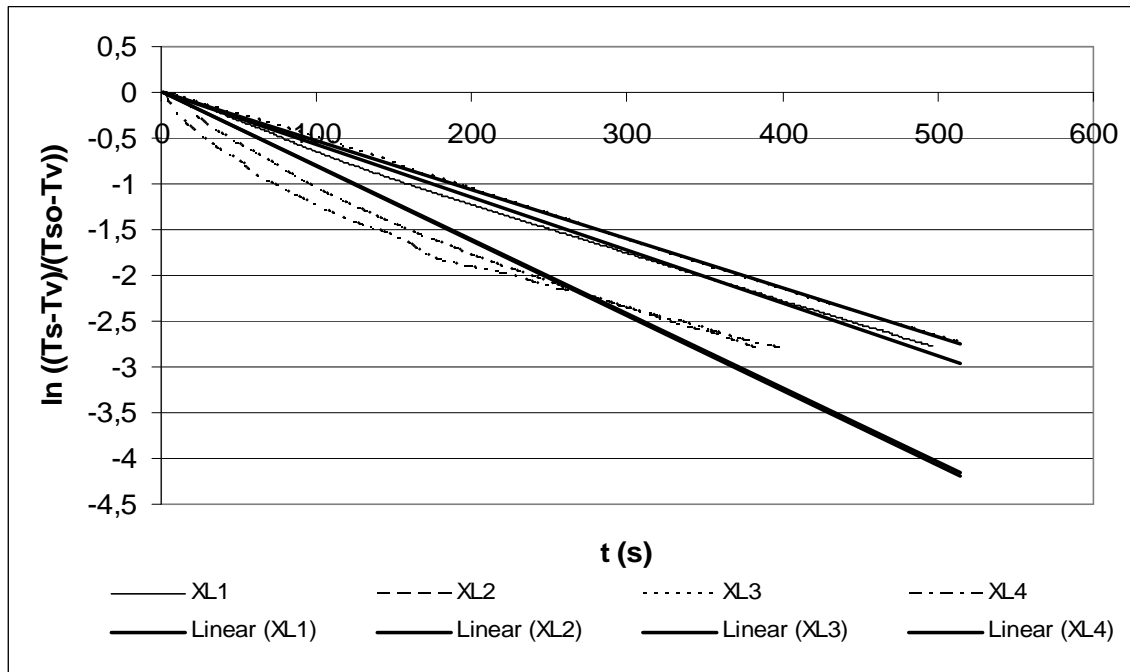


Slika 9: Segrevanje jajc velikosti XL od temperature hladilnika do T_s 64 °C pri konstantni temperaturi vode

Legenda: T XL1 (2, 3, 4) – središčna temperatura jajca 1 (2, 3, 4), T_v – temperatura vode

Slika 9 prikazuje kot primer potek segrevanja štirih jajc velikosti XL od temperature hladilnika do T_s 64 °C pri konstantni temperaturi vode. Prikazane so središčne temperature jajc in vzporedne meritve temperature vode v aparatu Zlato jajce.

Slika 10 prikazuje linearen del segrevanja štirih jajc velikosti XL od temperature hladilnika do T_s 64 °C pri konstantni temperaturi vode. Na sliki 10 so podatki prikazani kot odvisnost naravnega logaritma kvocienta razlik središčne temperature jajca in temperature vode od časa kot navaja Palazoglu (2006).



Slika 10: Linearen del segrevanja jajc velikosti XL od sobne temperature do T_s 64 °C pri konstantni temperaturi vode

Legenda: T_v - temperatura vode (°C), T_s - središčna temperatura jajca (°C), T_{s0} - začetna središčna temperatura jajca (°C), XL1 (2, 3, 4) – logaritem kvocienta razlik središčne temperature jajca in temperature vode jajca 1 (2, 3, 4) velikosti XL, linear – izračunani linearni del segrevanja jajca

V preglednici 6 je opisano segrevanje jajc velikosti S, M, L in XL in starosti 12 in 19 dni do T_s 64 °C. Poleg mase in starosti jajc ter časa, ki je bil potreben, da T_s doseže 64 °C, je podano območje za izračun najbolj linearnega dela segrevanja jajca, ki smo ga upoštevali za izračun koeficient prenosa toplote jajc k (s^{-1}).

Preglednica 6: Segrevanje jajc velikosti S, M, L in XL starih 12 in 19 dni od temperature hladilnika do T_s , 64 °C pri konstantni temperaturi vode 70 °C

Oznaka jajca	Masa (g)	Starost jajc (dan)	Čas do T_s 64 °C (s)	Časovno območje za izračun (s)	Premica
S1	51,86	12	378	0-424	$y = -0,007x, R^2 = 0,995$
S2	49,54		405	0-455	$y = -0,006x, R^2 = 0,999$
S3	52,21		276	0-321	$y = -0,010x, R^2 = 0,969$
S4	49,51		313	0-357	$y = -0,008x, R^2 = 0,958$
Povprečje	50,78		343	/	/
M1	52,91		318	0-367	$y = -0,008x, R^2 = 0,989$
M2	53,73		374	0-420	$y = -0,008x, R^2 = 0,958$
M3	58,66		367	0-418	$y = -0,007x, R^2 = 0,997$
M4	54,84		291	0-339	$y = -0,007x, R^2 = 0,997$
Povprečje	55,04		338	/	/
L1	64,64		294	0-339	$y = -0,009x, R^2 = 0,972$
L2	67,65		366	0-418	$y = -0,007x, R^2 = 0,961$
L3	68,67		341	0-401	$y = -0,008x, R^2 = 0,955$
L4	65,50		267	0-314	$y = -0,010x, R^2 = 0,969$
Povprečje	66,62		317	/	/
XL1	74,30		434	0-496	$y = -0,006x, R^2 = 0,996$
XL2	74,18		321	0-381	$y = -0,008x, R^2 = 0,951$
XL3	74,33		457	0-513	$y = -0,005x, R^2 = 0,999$
XL4	72,92		327	8-397	$y = -0,006x, R^2 = 0,969$
Povprečje	73,93		385	/	/
S1	43,37	19 dni	347	0-394	$y = -0,007x, R^2 = 0,996$
S2	51,16		269	0-320	$y = -0,010x, R^2 = 0,966$
S3	51,42		377	0-434	$y = -0,006x, R^2 = 0,998$
S4	50,01		312	0-364	$y = -0,008x, R^2 = 0,996$
Povprečje	48,99		326	/	/
M1	57,09		376	0-429	$y = -0,006x, R^2 = 0,998$
M2	54,90		452	0-506	$y = -0,005x, R^2 = 0,999$
M3	52,27		417	0-470	$y = -0,005x, R^2 = 0,996$
M4	53,21		347	0-390	$y = -0,007x, R^2 = 0,966$
Povprečje	54,37		398	/	/
L1	69,90		447	0-509	$y = -0,005x, R^2 = 0,996$
L2	62,85		452	0-508	$y = -0,005x, R^2 = 0,999$
L3	70,78		472	0-537	$y = -0,005x, R^2 = 1,000$
L4	71,84		495	0-555	$y = -0,005x, R^2 = 0,988$
Povprečje	68,84		467	/	/
XL1	73,08		463	0-538	$y = -0,005x, R^2 = 0,999$
XL2	73,98		441	0-514	$y = -0,005x, R^2 = 0,999$
XL3	73,59		464	0-527	$y = -0,005x, R^2 = 0,999$
XL4	73,19		461	0-522	$y = -0,005x, R^2 = 0,999$
Povprečje	73,46		457	/	/

Legenda: S, M, L, XL – velikost jajc, T_s – središčna temperatura jajca, R^2 – korelacijski koeficient

Rezultati segrevanja jajc različnih velikosti od temperature hladilnika do središčne temperature 64 °C pri konstantni temperaturi vode kažejo, da je velikost oz. masa jajc vplivala na čas, ki je bil potreben, da se jajce segreje do želene T_s (preglednica 6), medtem, ko so bili povprečni časi segrevanja daljši pri 19 dni starih jajcih kot pa pri 12 dni starih jajcih.

V preglednici 7 je opisano segrevanje jajc velikosti S, M, L in XL in starosti 27 in 34 dni do T_s 64 °C. Poleg mase in starosti jajc ter časa, ki je bil potreben, da T_s doseže 64 °C, je podano območje za izračun najbolj linearnega dela segrevanja jajca, ki smo ga upoštevali za izračun koeficient prenosa toplote jajc k (s^{-1}).

Rezultati segrevanja jajc različnih velikosti starih 27 in 34 dni od temperature hladilnika do središčne temperature 64 °C pri konstantni temperaturi vode kažejo, da velikost oz. masa jajc ni imela bistvenega vpliva na čas, ki je bil potreben, da se jajce segreje do željene T_s (preglednica 7).

Preglednica 7: Segrevanje jajc velikosti S, M, L in XL starih 27 in 34 dni od temperature hladilnika do T_s 64 °C pri konstantni temperaturi vode 70 °C

Oznaka jajca	Masa (g)	Starost jajc (dan)	Čas do T_s 64 °C (s)	Časovno območje za izračun (s)	Premica
S1	50,37	27 dni	401	0-448	$y = -0,006x, R^2 = 0,992$
S2	48,38		372	0-405	$y = -0,007x, R^2 = 0,993$
S3	49,05		359	0-402	$y = -0,007x, R^2 = 0,999$
S4	48,35		384	0-421	$y = -0,006x, R^2 = 0,991$
Povprečje	49,04		379	/	/
M1	52,65		322	0-364	$y = -0,008x, R^2 = 0,991$
M2	60,57		436	0-493	$y = -0,006x, R^2 = 0,999$
M3	55,61		418	0-450	$y = -0,006x, R^2 = 0,995$
M4	56,11		437	0-494	$y = -0,006x, R^2 = 0,998$
Povprečje	56,24		403		
L1	69,70		433	0-493	$y = -0,006x, R^2 = 0,995$
L2	65,83		421	0-462	$y = -0,006x, R^2 = 0,999$
L3	69,63		443	0-490	$y = -0,006x, R^2 = 0,997$
L4	67,39		365	0-432	$y = -0,007x, R^2 = 0,990$
Povprečje	68,14		416		
XL1	72,95		474	0-546	$y = -0,005x, R^2 = 0,998$
XL2	75,00		475	0-547	$y = -0,005x, R^2 = 0,998$
XL3	72,18		491	0-559	$y = -0,005x, R^2 = 1,000$
XL4	72,19		486	0-542	$y = -0,005x, R^2 = 0,998$
Povprečje	73,18		482		

Preglednica 7: Segrevanje jajc velikosti S, M, L in XL starih 27 in 34 dni od temperature hladilnika do T_s 64 °C pri konstantni temperaturi vode 70 °C

Oznaka jajca	Masa (g)	Starost jajc (dan)	Čas do T_s 64 °C (s)	Časovno območje za izračun (s)	Premica
S1	49,57	34 dni	399	0-450	$y = -0,006x, R^2 = 0,989$
S2	46,87		381	0-430	$y = -0,006x, R^2 = 0,992$
S3	45,05		315	0-362	$y = -0,008x, R^2 = 0,996$
S4	53,17		389	0-438	$y = -0,006x, R^2 = 0,996$
Povprečje	48,67		371		
M1	53,54		417	0-476	$y = -0,006x, R^2 = 0,999$
M2	55,51		369	0-424	$y = -0,007x, R^2 = 0,996$
M3	51,94		413	0-473	$y = -0,006x, R^2 = 0,993$
M4	58,96		426	0-475	$y = -0,006x, R^2 = 0,997$
Povprečje	54,99		406		
L1	66,60		321	0-375	$y = -0,008x, R^2 = 0,987$
L2	64,12		414	0-464	$y = -0,006x, R^2 = 0,999$
L3	68,36		438	0-500	$y = -0,006x, R^2 = 0,998$
L4	64,56		506	0-556	$y = -0,005x, R^2 = 0,998$
Povprečje	65,91		420		
XL1	72,68		459	0-518	$y = -0,005x, R^2 = 0,984$
XL2	70,27		401	0-472	$y = -0,006x, R^2 = 0,980$
XL3	78,03		327	0-390	$y = -0,008x, R^2 = 0,958$
XL4	77,10		277	0-335	$y = -0,009x, R^2 = 0,986$
Povprečje	74,52		353		

Legenda: S, M, L, XL – velikost jajc, T_s – središnja temperatura jajca, R^2 – korelacijski koeficient

Statistična primerjava koeficientov prenosa toplote, ki smo jih izračunali iz podatkov v preglednicah 6 in 7, je bila narejena z namenom določiti, ali velikost jajc in starost jajc (enačba 3.7) vplivata na povprečen koeficient prenosa toplote v jajcu.

Preglednica 8: Vpliv velikosti in starosti jajc na vrednost k pri segrevanju jajc do T_s 64 °C pri konstantni temperaturi vode 70 °C

Starost jajca (dan)	Št. ponovitev	Povprečen k (s^{-1}) pri velikosti jajca			
		S	M	L	XL
12	4	- 0,008 ^{A,a}	- 0,008 ^{A,b}	- 0,008 ^{A,b}	- 0,006 ^{A,ab}
19	4	- 0,008 ^{B,a}	- 0,006 ^{A,ab}	- 0,005 ^{A,a}	- 0,005 ^{A,ab}
27	4	- 0,006 ^{B,a}	- 0,006 ^{AB,a}	- 0,006 ^{AB,a}	- 0,005 ^{A,a}
34	4	- 0,007 ^{A,a}	- 0,006 ^{A,a}	- 0,006 ^{A,a}	- 0,007 ^{A,b}

Legenda: S, M, L, XL – velikost jajc, k - koeficient prenosa toplote; vrednosti k z enako črko se med seboj statistično ne razlikujejo ($P > 0,05$); vrednosti k z različno črko (A, B) se statistično razlikujejo - statistično značilen vpliv velikosti jajca ($P < 0,05$); vrednosti k z različno črko (a, b) se statistično razlikujejo - statistično značilen vpliv starosti jajca ($P < 0,05$)

Ugotovili smo, da se vrednosti k za jajca različnih velikosti (S, M, L in XL) stara 12 dni statistično ne razlikujejo; enako smo ugotovili za jajca stara 34 dni. Pri jajcih starih 19 dni se koeficient prenosa toplote za jajca velikosti S razlikuje od koeficienta prenosa toplote za jajca drugih treh velikosti jajca velikosti S so se tudi najhitreje segrela do T_s 64 °C (preglednica 6). Pri jajcih starih 27 dni je statistično značilna razlika med koeficienti prenosa toplote za jajca velikosti S in XL.

V preglednici 8 vidimo tudi, da starost jajc nima vpliva na vrednost koeficienta prenosa toplote le pri jajcih velikosti S, medtem ko pri velikostih M, L in XL starost jajc vpliva na vrednost koeficienta prenosa toplote.

Da bi ugotovili ali način segrevanja jajc vpliva na koeficient prenosa toplote smo primerjali koeficiente prenosa toplote (k) (enačba 3.8):

- za jajca stara 1 teden in segrevana sočasno z vodo do T_s 60 °C (vrednosti k za jajca velikosti XL, L, M in S iz preglednice 3) in
- za jajca stara 12 dni segrevana ob konstantni temperaturi vode do T_s 64 °C (vrednosti k za jajca velikosti XL, L, M in S iz preglednice 6).

Začetna temperatura jajc je bila vedno temperatura hladilnika. Ugotovili smo, da način segrevanja jajc vpliva na povprečno vrednost k (preglednica 9). Večji koeficient prenosa toplote pomeni hitrejše segrevanje jajc.

Preglednica 9: Vpliv načina segrevanja na povprečno vrednost koeficienta prenosa toplote

Način segrevanja	Št. ponovitev	Povprečen k (s^{-1})
Sočasno segrevanje jajc in vode	16	-0,002 ^A
Konstantna temperatura vode	16	-0,008 ^B

Legenda: k - koeficient prenosa toplote; vrednosti k z različno črko se med seboj statistično razlikujejo ($P < 0,05$)

4.3 PREŽIVELOST BAKTERIJ SEVA *S. Enteritidis* PRI SEGREVANJU JAJC VELIKOSTI XL in M

4.3.1 Preživelost bakterij seva *S. Enteritidis* pri segrevanju jajc do središčne temperature 60 °C pri sočasnem segrevanju vode

Preživelost bakterij seva *S. Enteritidis* v jajcih smo določali v jajcih, ki so bila termično obdelana v aparatu Zlato jajce do središčne temperature 60 °C. Uporabili smo jajca velikosti XL stara od 1 do 30 dni katerim smo dodali 0,1 ml 24-urne kulture seva *S. Enteritidis* (koncentracija 10⁸ cfu/ml čiste kulture). Za vsako starost smo uporabili 6 jajc. Prvo in drugo jajce sta bili vzeti iz aparata Zlato jajce, ko je njuna središčna temperatura dosegla 60 °C. Tretje in četrto jajce smo nato zadrževali 10 minut na 60 °C, medtem ko smo peto in šesto jajce zadrževali na središčni temperaturi 60 °C 60 minut. V vsakem jajcu smo nato določali preživelost salmonel v 10 g vzorca in rezultat podali kot pozitiven ali negativen v 10 g jajca.

V preglednici 10 so zbrani rezultati določanja preživelosti bakterij seva *S. Enteritidis* v jajcih velikosti XL pri starosti jajc 1, 7, 14, 21, 30 ter 38 dni. Preživelost je predstavljena pri različnih časovnih intervalih zadrževanja jajc na središčni temperaturi (pri T_s 60 °C, po 10 minutnem in po 60 minutnem zadrževanju jajc na središčni temperaturi).

Pri segrevanju jajc do središčne temperature 60 °C je razvidno, da se verjetnost preživetja bakterij seva *S. Enteritidis* večja s starostjo jajc. Pri 1, 7 in 14 dni starih jajcih je bil po en primer preživetja bakterij seva *S. Enteritidis* v času, ko je središčna temperatura jajca dosegla 60 °C, medtem ko po 10 in 60-minutnem zadrževanju jajc na 60 °C ni bilo preživelih salmonel. Pri 21 dni starih jajcih sta bila po 2 primera preživelosti bakterij seva *S. Enteritidis* v času, ko je središčna temperatura jajca dosegla 60 °C, ter en primer preživetja po 10-minutnem zadrževanju jajc na 60 °C, medtem ko po 60- minutnem zadrževanju jajc na 60 °C ni bilo preživelih salmonel. Pri 30 dni starih jajcih so bakterije seva *S. Enteritidis* preživele v vseh primerih razen v enem, ko smo jajca zadrževali 60-minut na 60 °C. Pri 38 dni starih jajcih salmonele niso preživele v dveh primerih, ko smo jajca 10 minut zadrževali na 60 °C, v drugih primerih pa so salmonele preživele.

Preglednica 10: Preživelost bakterij seva *S. Enteritidis* v jajcih velikosti XL pri sočasnem segrevanju vode in jajc do T_s 60 °C

Starost jajc (dan)	Oznaka jajca	Masa jajca (g)	Čas vzorčenja	<i>Salmonella</i> /10 g jajca	
				XLD	Rambach
1	1	75,44	A	neg	-
	2	73,76		poz	-
	3	76,78	B	neg	-
	4	77,09		neg	-
	5	73,51	C	neg	-
	6	75,18		neg	-
7	1	74,88	A	poz	poz
	2	73,08		neg	neg
	3	75,53	B	neg	neg
	4	75,86		neg	neg
	5	74,5	C	neg	neg
	6	73,81		neg	neg
14	1	73,45	A	neg	neg
	2	72,76		poz	poz
	3	72,94	B	neg	neg
	4	74,24		neg	neg
	5	73,54	C	neg	neg
	6	74,42		neg	neg
21	1	75,84	A	poz	poz
	2	75,72		poz	poz
	3	74,33	B	poz	poz
	4	74,02		neg	neg
	5	73,93	C	neg	neg
	6	72,96		neg	neg
30	1	74,26	A	poz	poz
	2	74,74		poz	poz
	3	72,77	B	poz	poz
	4	73,45		poz	poz
	5	72,37	C	poz	poz
	6	74,09		neg	neg
38	1	73,00	A	poz	poz
	2	74,02		poz	poz
	3	74,77	B	neg	neg
	4	75,63		neg	neg
	5	71,27	C	poz	poz
	6	72,96		poz	poz

Legenda: čas vzorčenja : A: pri T_s 60 °C, B: po 10 min na T_s 60 °C, C: po 60 min na T_s 60 °C

Za termično obdelavo smo uporabili tudi jajca velikosti M stara 30 dni, katerim smo dodali nižjo koncentracijo bakterij seva *S. Enteritidis* (0,1 ml s koncentracijo 10^4 cfu/ml čiste kulture). Prvo in drugo jajce sta bili vzeti iz aparata Zlato jajce, ko je njuna središčna temperatura dosegla 60 °C, tretje in četrto jajce smo zadrževali 10 minut in peto in šesto jajce smo zadrževali na središčni temperaturi 60 minut.

Preglednica 11: Preživelost bakterij seva *S. Enteritidis* v jajcih velikosti M pri sočasnem segrevanju vode in jajc do T_s 60 °C

Starost jajc (dan)	Oznaka jajca	Masa jajca (g)	Čas vzorčenja	<i>Salmonella</i> /10 g jajca	
				XLD	Rambach
30	1	53,18	A	poz	poz
	2	53,75		poz	poz
	3	56,09	B	neg	neg
	4	55,34		neg	neg
	5	55,13	C	neg	neg
	6	56,68		neg	neg

Legenda: čas vzorčenja : A: pri T_s 60 °C, B: po 10 min na T_s 60 °C, C: po 60 min na T_s 60 °C

Pri jajcih velikosti M s pretečenim rokom trajanja in manjšo koncentracijo salmonel, so bakterije preživele, ko smo segrevali jajci do T_s 60 °C s sočasn timer segrevanjem vode. Po 10 min in 60 min na T_s 60 °C ni bilo preživelih salmonel (preglednica 11).

4.3.2 Preživelost bakterij seva *S. Enteritidis* pri segrevanju jajc do T_s 64 °C pri konstantni temperaturi vode

V tem delu eksperimenta smo uporabili jajca velikosti XL stara od 21 in 30 dni, katerim smo dodali bakterije seva *S. Enteritidis* (0,1 ml s koncentracijo 10^8 cfu/ml čiste kulture). Za vsako starost smo uporabili 6 jajc. Prvo in drugo jajce sta bili vzeti iz aparata Zlato jajce, ko je njuna središčna temperatura dosegla 64 °C. Tretje in četrto jajce smo nato zadrževali 10 minut na 64 °C, medtem ko smo peto in šesto jajce zadrževali na središčni temperaturi 60 minut. Jajca smo segrevali pri konstantni temperaturi vode 70 °C.

Preglednica 12 prikazuje preživelost bakterij seva *S. Enteritidis* v jajcih velikosti XL starih 21 in 30 dni pri središčni temperaturi jajc T_s 64 °C pri različnih zadrževalnih časih na omenjeni temperaturi.

Preglednica 12: Preživelost bakterij seva *S. Enteritidis* v jajcih velikosti XL pri T_s 64 °C pri konstantni temperaturi vode 70 °C

Starost jajc	Oznaka jajca	Masa jajca (g)	Čas vzorčenja	Bakterije rodu <i>Salmonella</i> / 10 g jajca	
				XLD	Rambach
21 dni	1	72,55	A	poz	poz
	2	73,86		poz	poz
	3	76,06	B	neg	neg
	4	72,75		neg	neg
	5	72,25	C	neg	neg
	6	74,06		neg	neg
30 dni	1	72,38	A	neg	neg
	2	73,01		neg	neg
	3	73,27	B	neg	neg
	4	72,59		neg	neg
	5	73,13	C	neg	neg
	6	71,45		neg	neg

Legenda: čas vzorčenja : A: pri T_s 64 °C, B: po 10 min na T_s 64 °C, C: po 60 min na T_s 64 °C

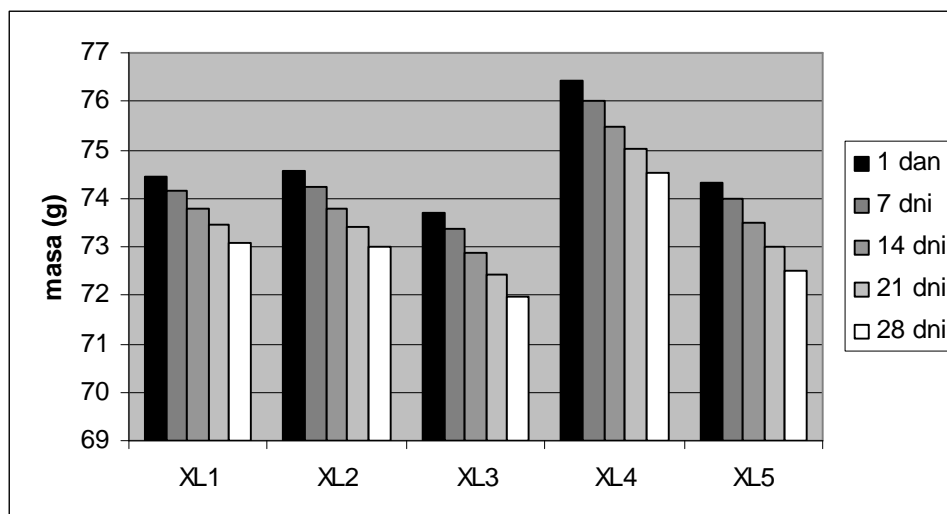
Salmonele so preživele v jajcih starih 21 dni, katere smo segreli do T_s 64 °C in jih nismo zadrževali na tej temperaturi, v vseh drugih primerih salmonele niso preživele (preglednica 12).

4.4 VPLIV STAROSTI NA MASO JAJC

Med eksperimentalnim delom smo spremljali maso petih jajc velikosti XL. Preglednica 13 prikazuje izgubo mase jajc velikosti XL med 28 dnevnim skladiščenjem v hladilniku.

Preglednica 13: Masa (m) in zmanjšanje mase (zm) jajc velikosti XL med 28 dnevnim skladiščenjem v hladilniku pri 5 °C

Starost (dnevi)	jajce XL1		jajce XL2		jajce XL3		jajce XL4		jajce XL5		Povprečno	
	m (g)	zm (g)	m (g)	zm (g)	m (g)	zm (g)	m (g)	zm (g)	m (g)	zm (g)	m (g)	zm (g)
1	74,44	/	74,56	/	73,70	/	76,43	/	74,32	/	74,69	/
7	74,16	0,28	74,23	0,33	73,36	0,34	76,03	0,40	73,98	0,34	74,35	0,34
14	73,80	0,64	73,80	0,76	72,86	0,84	75,46	0,97	73,49	0,83	73,88	0,81
21	73,45	0,99	73,41	1,15	72,41	1,29	75,02	1,41	73,00	1,32	73,46	1,23
28	73,10	1,34	73,01	1,55	71,95	1,75	74,54	1,89	72,50	1,82	73,02	1,67



Slika 11: Masa jajc med 28 dnevnim skladiščenjem pri 5 °C

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

5.1.1 Temperaturni parametri segrevanja jajc

Prvi del naše naloge je bila določitev temperaturnih parametrov segrevanja jajc. Jajca smo segrevali ob sočasnem segrevanju vode do središčne temperature jajc $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, in sicer tako, da smo segrevanje jajc začeli enkrat pri sobni temperaturi jajc in drugič pri temperaturi hladilnika. V drugem delu smo segrevali jajca različnih velikosti (S, M, L in XL) do središčne temperature jajc $64\text{ }^{\circ}\text{C}$ pri konstantni temperaturi vode ($70\text{ }^{\circ}\text{C}$). Ob začetku segrevanja so imela jajca temperaturo hladilnika. Jajca so bila tudi različnih starosti, in sicer 12, 19, 27 in 34 dni.

Zanimalo nas je, kako velikost, starost, začetna temperatura jajc (hladilnik ali sobna temperatura) in način segrevanja jajc (ob sočasnem segrevanju jajc in vode oz. segrevanje jajc ob konstantni temperaturi vode) vplivajo na temperaturne parametre segrevanja jajc.

Ugotovili smo, da velikost jajca (S, M, L in XL) ni vplivala na povprečen koeficient prenosa toplote (k) jajc pri sočasnem segrevanju vode in jajc (preglednici 2 in 4), prav tako začetna temperatura jajca (sobna temperatura ali temperatura hladilnika) (preglednica 5) ni vplivala na vrednost k . Do podobnih ugotovitev sta prišla tudi Grijspeerdt in Herman (2003). Ugotovila sta, da začetna teža jajca ter začetna temperatura nimata vpliva na koeficient prenosa toplote. Razlika med njunim in našim poskusom je v tem, da smo pri nas uporabili aparat Zlato jajce, medtem ko sta omenjena znanstvenika uporabila vodno kopel. Poleg tega je bil interval naših meritev ena sekunda pri njiju pa so bile meritve opravljene vsako minuto.

Ko smo jajca segrevali pri konstantni temperaturi vode ($70\text{ }^{\circ}\text{C}$), smo določili, da se vrednosti k za jajca velikosti S, M, L in XL stara 12 ali 34 dni statistično ne razlikujejo (preglednica 8); medtem ko se vrednosti k za jajca velikosti S stara 19 dni razlikujejo od koeficienta prenosa toplote za jajca drugih treh velikosti. Pri jajcih starih 27 dni je statistično značilna razlika med koeficienti prenosa toplote za jajca velikosti S in XL. Starost jajc nima vpliva na vrednost koeficienta prenosa toplote le pri jajcih velikosti S, medtem ko pri velikostih M, L in XL starost jajc vpliva na vrednost koeficienta prenosa toplote. Glede na raziskavo, ki sta jo opravila Grijspeerdt in Herman (2003) je ugotovljeno, da teža jajca nima neposrednega vpliva na temperaturni profil segrevanja jajc. Uporabila sta le jajca velikosti L in M. Pri našem eksperimentu se jajca različnih velikosti in starosti v nekaterih primerih razlikujejo po profilih segrevanja, kar je v nasprotju z ugotovitvami omenjenih znanstvenikov.

Način segrevanja jajc v vodi (sočasno segrevanje vode in jajc ali konstantna temperatura vode) je vplival na povprečno vrednost k . Povprečni koeficient prenosa toplote je bil precej večji za jajca, ki smo jih segrevali ob konstantni temperaturi vode, medtem ko je bil omenjeni koeficient za jajca, ki smo jih segrevali istočasno z vodo manjši. Tudi v literaturi zasledimo podoben primer. Znanstveniki so določali profile segrevanja jajc, in sicer so vzeli jajca s temperaturo hladilnika ($6\text{ }^{\circ}\text{C}$) ter jih segrevali. V prvem primeru so jih segrevali v vreli vodi, v drugem primeru pa so segrevali jajca hkrati z vodo, ki je imela začetno temperaturo enako sobni temperaturi. Rezultati kažejo, da so imela jajca segrevana z vrelo vodo malo nižje koeficiente prenosa toplote, kot jajca segrevana z vodo, ki je imela začetno sobno temperaturo, vendar bistvenih razlik med koeficienti prenosa toplote ni bilo. (Grijspeerdt in Herman, 2003).

5.1.2 Preživetje bakterij seva *Salmonella* Enteritidis v kuhanih jajcih

Naš drugi del raziskovalne naloge je bil določiti preživelost bakterij seva *S. Enteritidis* v kuhanih jajcih, ki so bila segreta središčne temperature $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ in $64\text{ }^{\circ}\text{C}$. Eksperimentalno delo je potekalo v naslednjih fazah: priprava inokuluma bakterij seva *S. Enteritidis* z 10^8 cfu/ml, kontaminacija jajc z 0,1 ml čiste kulture ter segrevanje jajc do središčnih temperatur $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ in $64\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob različnih zadrževalnih časih (0, 10 in 60 minut) na T_s smo odvzeli po dva vzorca jajc in v 10 g jajca določili preživelost salmonel.

Uspešnost pasterizacije jajc v lupini so preučevali tudi Schuman in sod. (1997). Sveža, oprana in očiščena jajca teže 62 ± 2 g so kontaminirali z bakterijami seva *S. Enteritidis* preko jajčne lupine s koncentracijo celic približno 3×10^8 cfu v sredino jajčnega rumenjaka. Pri takšni kontaminaciji jajc je bila uspešna 50 – 57,5 minutna pasterizacija v vodni kopeli pri $58\text{ }^{\circ}\text{C}$ oziroma 65 – 75 minutno segrevanje pri $57\text{ }^{\circ}\text{C}$. Pri naših eksperimentih smo ugotovili, da salmonеле niso preživele 10 minutnega segrevanja jajc pri $64\text{ }^{\circ}\text{C}$ (preglednica 12) v primeru, ko smo jajca segrevali pri konstantni temperaturi vode. Razlika med našim eksperimentalnim delom in delom Schumana in sod. (1997) je bila v različnih središčnih temperaturah ter zadrževalnih časih, pa tudi v tem, da je bil pri našem delu uporabljen aparat Zlato jajce, medtem ko so Schuman in sodelavci uporabili vodno kopel.

5.1.2.1 Vpliv središčne temperature jajc in vpliv časa segrevanja na preživetje bakterij seva *S. Enteritidis*

Vpliv segrevanja umetno kontaminiranih jajc do različnih središčnih temperatur smo preučevali s kontaminacijo jajc v lupini s bakterijami seva *S. Enteritidis* ŽM351, za katere je bilo v predhodnih eksperimentih določeno, da so toplotno zelo odporne (Strelec, 2006). Višja središčna temperatura (T_s $64\text{ }^{\circ}\text{C}$) in hitrejši način segrevanja jajc (pri konstantni temperaturi vode) sta vplivala na zmanjšano preživelost salmonel. Hazeleger in sod. (2004) so v podobnih eksperimentih pri katerih so jajca kontaminirana s salmonelami pasterizirali v aparatu Pollux prišli do podobnih zaključkov, da namreč

ustrezna prilagoditev časa in temperature segrevanja jajc omogoči popolno uničenje salmonel tudi pri visokem začetnem številu 10^8 cfu/ml.

Vpliv časa segrevanja sta preučevala Doyle in Mazzota (1999) in prišla do ugotovitve, da 15 minutno kuhanje jajc do središčne temperature rumenjaka $88\text{ }^{\circ}\text{C}$ in 7 minutno kuhanje do središčne temperature rumenjaka $75,4\text{ }^{\circ}\text{C}$ učinkovito uničuje bakterije seva *S. Typhimurium*, krajše kuhanje (3 - 5,5 minut) pa ni bilo učinkovito. Preživetje bakterij rodu *Salmonella* odvisno od časa segrevanja, kar se vidi tudi iz naših rezultatov.

Pri našem eksperimentu smo imeli tri različne zadrževalne čase (0 , 10 minut in 60 minut) na središčni temperaturi $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ oziroma $64\text{ }^{\circ}\text{C}$. Potrdili smo dejstvo, da daljši, ko je čas segrevanja, manjše je preživetje bakterij seva *S. Enteritidis*. V jajcih, ki smo jih zadrževali na središčni temperaturi 60 minut, salmonele niso preživele (preglednica 10) v primerih, da so bila jajca stara do 28 dni. Znanstvenika Doyle in Mazzota (1999), sta v podobnih eksperimentih ugotovila, da daljši ko je čas kuhanja in višja kot je temperatura vode, manjša je preživelost salmonel.

5.1.2.2 Vpliv starosti jajc na preživetje bakterij seva *S. Enteritidis*

Glede na dobljene rezultate pri segrevanju jajc do $T_s\ 60\text{ }^{\circ}\text{C}$ je bila preživelost salmonel večja pri starejših jajcih, in sicer je bila največja pri starosti 30 in 38 dni, medtem ko je bila pri mlajših jajcih precej manjša. Pri segrevanju jajc do $T_s\ 64\text{ }^{\circ}\text{C}$ pa tudi pri najstarejših jajcih (21 in 30 dni) ni bilo preživelih salmonel (preglednica 12). Razlog za večjo preživelost salmonel v starejših jajcih pri nižji $T_s\ 60\text{ }^{\circ}\text{C}$ je verjetno v tem, da jajca s staranjem izgubljajo maso, hkrati pa se pojavi večja zračna komora in s tem boljša izolacija pred povišanimi temperaturami, ki vplivajo na preživelost salmonel.

5.2 SKLEPI

Glede na naše rezultate diplomskega dela smo naredili naslednje sklepe:

Koeficienti prenosa toplote jajc (k) določeni pri segrevanju jajc v aparatu Zlato jajce:

- se niso razlikovali med jajci velikosti S, M, L in XL pri sočasnem segrevanju vode in jajc do T_s 60 °C;
- se niso razlikovali med jajci, ki so imela različno začetno temperaturo (sobna temperatura ali temperatura hladilnika) pri sočasnem segrevanju vode in jajc do T_s 60 °C;
- se niso razlikovali med jajci velikosti S, M, L in XL starimi do 12 dni in za jajca starejša od 28 dni pri segrevanju jajc s konstantno temperaturo vode 70 °C do T_s 64 °C;
- se niso razlikovali med jajci velikosti S starimi od 12 do 34 dni, medtem, ko so se razlikovali med različno starimi jajci velikosti M, L in XL pri segrevanju jajc s konstantno temperaturo vode (70 °C) do T_s 64 °C;
- so se razlikovali glede na način segrevanja in sicer je povprečni koeficient prenosa toplote jajc precej večji za jajca segrevana z vodo konstantne temperature kot za jajca, ki so bila segrevana sočasno s segrevanjem vode.

Preživetje bakterij vrste *S. enterica* v jajcih pri segrevanju v aparatu Zlato jajce je odvisno:

- pri T_s 60 °C od starosti in velikosti jajca, časa zadrževanja jajca na središnji temperaturi ter od začetne koncentracije salmonel;
- pri T_s 64 °C od starosti jajc in časa zadrževanja jajc na tej temperaturi.

6 POVZETEK

V svetu so bakterije rodu *Salmonella* med najpogostejšimi vzroki zastrupitev s hrano, te okužbe so v porastu. Najpogostejši vir okužb s salmonelami so živila živalskega izvora, predvsem perutnina in perutninski izdelki, vključno z jajci (WHO, 2002).

Jajca so pomemben del prehrane kot samostojno živilo ali kot sestavni del številnih izdelkov. Na kakovost jajc imata največji vpliv kakovost krme (izvor, kvaliteta) in način reje kokoši. Čeprav lahko na jajčnih lupinah odkrijemo vrsto raznovrstnih mikrobov, je zgodovina jajc kot izvora človeških bolezni povezana skoraj izključno z bakterijami rodu *Salmonella*. Različni sevi bakterij rodu *Salmonella* so bili odkriti na jajčnih lupinah, vendar je najpogostejše z velikim številom izbruhov bolezni povezan sev *S. Enteritidis*.

Trajnost in varnost jajc in jajčnih izdelkov, ki jih shranjujemo pri temperaturah hladilnika, je povezana z mikrobiološko kakovostjo. Primarno zagotavljanje mikrobiološke ustreznosti jajc in tekočih jajčnih izdelkov je lahko odvisno tudi od izbire primerne načina pasterizacije. Beseda pasterizacija se nanaša na toplotno obdelavo živil pri temperaturah pod tistimi, ki so potrebne za popolno sterilizacijo (Banwart, 1981). Postopki obdelave jajc so lahko termični (na primer pasterizacija jajc v lupini) in ne-termični (radiacija, ultrazvok).

Namen našega raziskovalnega dela je bil določiti preživelost bakterij rodu *Salmonella* pri kuhanju jajc do središčne temperature 60 °C in 64 °C v aparatu Zlato jajce. Aparat Zlato jajce je uporaben izključno za pripravo kuhanih jajc in za vzdrževanje kuhanih jajc na določeni temperaturi do 6 ur (Kogast, 2006). Glede na različne čase segrevanja in različne temperature smo ugotavljali preživelost bakterij rodu *Salmonella*. Raziskovali smo tudi vpliv mase in starosti jajc na preživetje bakterij. Določili smo vpliv temperature, starosti, mase in časa segrevanja na preživetje bakterijskih celic. Poleg naštetega smo ugotavljali tudi potek segrevanja jajc do določenih središčnih temperatur.

Naši rezultati so pokazali, da je koeficient prenosa toplote jajca (k) pri segrevanju do T_s 60 °C neodvisen od velikosti jajc (S, M, L, XL) in od začetne temperature jajc (sobna temperatura ali temperatura hladilnika) pri sočasnem segrevanju jajc in vode. Prav tako je povprečni koeficient prenosa toplote jajca (k) pri segrevanju jajc do T_s 64 °C neodvisen od velikosti jajc (S, M, L, XL), za jajca stara do 12 dni in za jajca starejša od 28 dni pri konstantni T vode. Ugotovili smo tudi, da je povprečni koeficient prenosa toplote jajc pri segrevanju do T_s 64 °C neodvisen od starosti jajc (12-34 dni) le za jajca velikosti S.

V drugem delu eksperimenta, ko smo določali preživelost bakterij rodu *Salmonella* v jajcih, ki smo jih kuhali v aparatu Zlato jajce do različnih središčnih temperatur (60 in 64 °C) po različnih zadrževalnih časih (0, 10 in 60 minut na T_s). Ugotovili smo, da je preživetje salmonel v jajcih segretilih do T_s 60 °C odvisno od starosti in velikosti jajca, ter od začetne koncentracije salmonel. Prav tako je preživetje salmonel v jajcih segretilih do T_s 64 °C odvisno od starosti jajc in časa zadrževanja jajc na tej temperaturi.

7 VIRI

Adamič J., Smole – Možina S., Jeršek B. 2003. Vloga in pomen mikroorganizmov v živilih in taksonomija. V: Mikrobiologija živil živalskega izvora. Bem Z., Adamič J., Žlender B., Možina - Smole S., Gašperlin L. (ur.) Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 1 - 45

Andlovic A. 2002. Salmonele, šigele. V: Medicinska bakteriologija z imunologijo in mikologijo. Gubina M., Ihan A. (ur.). Ljubljana, Medicinski razgledi, Inc.: 189-200

Ball H.R., Hamid-Samimi M., Foegeding P.M., Swartzel K.R. 1987. Functionality and microbial stability of ultrapasteurized, aseptically packaged refrigerated whole egg. *Journal of Food Science*, 52, 1212-1218

Banwart G. J. 1981. *Basic food microbiology*. Westport, Avi Publishing Co. : 414-466

Biolife. 2003. *Biolife manual*. 3rd ed. 2003. Biolife, Inc.: 147-148

Cherian G. 2006. Egg biology. V: *Handbook of food science, technology and engineering*. Vol. 4. Hui Y. H. (ed.). Boca Raton, CRC Press, Tylor & Francis Group: 153-1 – 153-12

Doganoc Z. D., Komar M. 2001. *Analize kakovosti jajc in jajčnih izdelkov*. Ljubljana, Veterinarska fakulteta: 8-17

Doyle M. E. in Mazzota A. S. 1999. Review of studies on the thermal resistance of *Salmonellae*. *Journal of Food Protection*, 63, 6: 779-781

Euzéby J. 2005. Validation list no. 102: Validation of publication of new names and new combinations previously effectively published outside the IJSEM. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55: 547-549

<http://ijs.sgmjournals.org/cgi/reprint/55/2/547> (19. 04. 2006): 3 str.

Eggs and egg products. 1998. V: *Microorganisms in foods*. 6: Microbial ecology of food commodities. ICMFS. 1st ed. Roberts T. A., Pitt J. I., Farkas J., Grau F. H. (eds.). London, Blackie Academic & Professional; International Commission on Microbiological Specifications for Foods.: 475-514

Elliot R. P., Hobbs B.C., 1980. Eggs and egg products. V: *Microbial ecology of foods*. Vol.2: Food commodities. New York, International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Academic Press, 521-566

Fox B.A., Cameron A.G. 1995. *Food science, nutrition and health*. 6th ed., London, Arnold: 388 str.

Gast R. K. 2005. Bacterial infection of eggs. V: Food safety control in the poultry industry. Mead G. C. (ed.). Cambridge, Woodhead Publishing Limited: 1-18

Gast R. K. 2003. Introduction: Salmonella infections. V: Diseases of poultry. 11th ed. Saif Y. M., Barnes J. H., Glisson R. J., Fadly M. A., McDougald R. L., Swayne E. D. (eds.). Ames, Iowa, Iowa State Press: 583 – 613

Gašperlin L., Bem Z. 2003. Jajca. V: Mikrobiologija živil živalskega izvora. Bem Z., Adamič J., Žlender B., Možina Smole S., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 447-458

Giese J. 1994. Ultrapasteurized liquid whole eggs earn. Food Technology, 52, 10: 1594-1596

Grijnspeerdt K., Herman L. 2003. Inactivation of *Salmonella enteritidis* during boiling of eggs. International Journal of Food Microbiology, 82: 13-24

Hazeleger W., Rijm A., Beumer R. 2004. Reduction of *Salmonella* in eggs after treatment with the Pollux. V: New tools for improving microbial food safety and quality – biotechnology and molecular biology approaches: book of abstracts. The 19th International ICFM Symposium, Food Micro 2004, 12-16th September, 2004, Portorož, Slovenia. Raspor P., Možina - Smole S., Cencič A. eds. Ljubljana: Slovenian Microbiological Society: 112-112

Hou H., Singh R.K., Muriana P.M., Stadelman W.J. 1996. Pasteurization of intact shell eggs. Food Microbiology, 13: 93-101

Krauss H., Weber A., Appel M., Enders B., Von Graevenitz A., Isenberg H. D., Schiefer H. G., Slenczka W., Zahner H. 2004. Zoonosen: von Tier zu Mensch übertragbare Infektionskrankheiten. 3. Aufl. Köln, Deutscher Ärzte-Verlag: 307-309

Mañas P., Pagan R., Alvarez I., Condon Uson S. 2003. Survival of *Salmonella senftenberg* 775W to current liquid whole egg pasteurization treatments, Food Microbiology, 20:593-600

Merck: Microbiology manual. 12th ed. 2002. Darmstadt, Merck, Inc.: 207 str.

Merck: Rambach agar. Cat. Nr. 1.07228.0500.2006. Darmstadt, Merck: 1 str.

Navodila za uporabo aparata Zlato jajce. 2006. KOGAST Grosuplje, KOGAST kovinstroj Gastronom, tovarna gostinske opreme. 9 str.

http://www.kogast.si/default.asp?stran=katalog_jajcekuh (2006). 9 str.

Opinion of the Scientific Committee on Veterinary Measures relating to public health on food-borne zoonoses: *Salmonella*. 2000. Brussels, European Commission, Health and Consumer Protection Directorate – General.

<http://europa.eu.int/comm> (avgust, 2005): 24-25, 86-92

Oxoid: The manual. 8th ed. 1998. Hampshire, Oxoid, Inc.: 207-208

Palazoglu K. 2006. Influence of convective heat transfer coefficient on the heating rate of materials with different thermal diffusivities. *Journal of Food Engineering*, 73: 290-296

Pollux, User Manual, 2002

Popoff M. Y., Le Minor L. E. 2005. Genus XXXIII. *Salmonella* Lignieres 1900, 389^{AL}. V: Bergey's manual of systematic bacteriology. 2nd ed. Vol. 2, The Proteobacteria. Part B; The Gammaproteobacteria. Brenner D. J., Krieg N. R., Staley J. T., Garrity G. M. (eds.). New York, Springer: 764-799

Plestenjak A., Golob T. 2000. Analiza kakovosti živil. 2. izd. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 102 str.

WHO. 2002. Risk assessments of *Salmonella* in eggs and broiler chickens. Geneva, World Health Organization; Rome, FAO: 7-13, 17-30, 97-104, 177-193

Salmoneloze. 2005. V: Epidemiološko spremljanje nalezljivih bolezni v letu 2004. Ljubljana, Inštitut za varovanje zdravja Republike Slovenije: 22-25

Schuman D. J., Sheldon W. B., Vandepopuliere M. J., Ball Jr. R. H. 1997. Immersion heat treatments for inactivation of *Salmonella* Enteritidis with intact eggs. *Journal of Applied Microbiology*, 83: 438-444

Schuman J.D., Sheldon B.W., 1997. Thermal resistance of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in liquid egg yolk and egg white. *Journal of Food Protection*, 60: 634-638

Shelobolina S. E., Sullivan A. S., O'Neill R. K., Nevin P. K., Lovley R. D. 2004. Isolation, characterization, and U(VI)-reducing potential of a facultatively anaerobic, acid-resistant bacterium from low-pH, nitrate- and U(VI)-contaminated subsurface sediment and description of *Salmonella subterranea* sp. *Applied and Environmental Microbiology*, 70, 5: 2959-2965

Sheldon B. W. 2005. Techniques for reducing pathogens in eggs. V: Food safety control in the poultry industry. Mead G. C. (ed.). Boca Raton, CRC Press; Cambridge: 273-304

SIS EN ISO 4833. Microbiology – General guidance for the enumeration of microorganisms – Colony count technique at 30 °C. 2003. 2nd ed.: 3-4

SIST EN ISO 6579:2003/AC:2004. 2004. Mikrobiologija živil in krme – Horizontalna metoda za ugotavljanje prisotnosti *Salmonella* spp. Ljubljana, Slovenski inštitut za standardizacijo: 6 str.

Skvarča M. 1998. Jedilna jajca obogatena z omega-3 maščobnimi kislinami: tehnološka in kulinarčna uporabnost jajc. Ljubljana, Jata reja d.d: 1-28

Strelec M. 2006. Preživetje različnih sevov bakterij rodu *Salmonella* pri pasterizaciji. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, diplomsko delo: 1-54

Uredba komisije (ES) št. 2295/2003 z dne 23. 12. 2003, o uvedbi podrobnih pravil za izvajanje Uredbe Sveta (EGS) št. 1907/90 o določenih standardih trženja za jajca. Bruselj, Evropska unija.

<http://europa.eu.int/eur-lex/sl/dd/docs/2003/32003R2295-SL.doc> (22. 2. 2006): 28 str.

Wray C. 2003. Salmonella: Properties and occurrence. V: Encyclopedia of food sciences and nutrition. Vol. 8. 2nd ed. Caballero B., Trugo L. C., Finglas P. M. (eds.). Amsterdam, Elsevier Science: 5074-5079

Yan S. S., Pendrak L. M., Abela-Ridder B., Pounderson W. J., Fedorko P. D., Foley L. S. 2003. An overview of *Salmonella* typing public health perspectives. Clinical and Applied Immunology Reviews, 4: 189-199

Zorko N. 1995. Proizvodnja jajc in mesa. Maribor, samozaložba: 18-24

ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem mentorici, doc. dr. Barbari Jeršek, za potrpežljivost ter koristne nasvete pri praktičnem delu naloge, ter strokovno vodstvo pri pisanju naloge.

Zahvala gre tudi recezentki prof. dr. Tereziji Golob za pregled diplomske naloge.

Zahvalil bi se tudi doc. dr. Lei Gašperlin. za pomoč pri statistični obdelavi podatkov.

Zahvala gre tudi ge. Jani Avbelj za številne uporabne nasvete pri praktičnem delu v laboratoriju.

Zahvalil bi se tudi prof.dr Marjanu Jenku za pomoč pri praktični izvedbi poskusa in tehnično pomoč pri aparatu Zlato jajce.