

KAPOSVÁRI EGYETEM
ÁLLATTUDOMÁNYI KAR
Mezőgazdasági Termékfeldolgozás és Minősítés Tanszék
Baromfi- és Társállattenyésztési Tanszék

**A HÍZOTT LIBAMÁJ TÁROLÁS ALATTI SZÍNHIJÁJÁNAK
ETIOLÓGIÁJA – PROBLÉMAFELDERÍTÉS,
TECHNOLÓGIAI JAVASLATOK**

Tudományos diákköri dolgozat

Készítette:

Kacsala László

I. évf. Állattenyésztő mérnök MSc szakos hallgató

Konzulens:

Dr. Szabó András

tudományos főmunkatárs

Társ-konzulens:

Dr. Áprily Szilvia

egyetemi adjunktus

Tanszékvezetők:

Dr. Romvári Róbert

egyetemi tanár

Dr. Sütő Zoltán

egyetemi docens

Kaposvár

2012

Tartalomjegyzék

1. Összefoglalás	3. oldal
1.2. Summary	3. oldal
2. Bevezetés és a témaválasztás indoklása	4. oldal
3. Szakirodalmi áttekintés	7. oldal
3.1. A baromfitermékek zöld elszíneződése	7. oldal
3.2. A víziszárnyas-feldolgozás sajátosságai	8. oldal
3.3. A hízott máj zsírtartalma és összetétele	11. oldal
3.4. A máj minősítése	12. oldal
3.5. Mikrobiológiai jellemzők	12. oldal
4. Célkitűzések	13. oldal
5. Anyag és módszer	14. oldal
5.1. A májak eredete, csomagolása és tárolása	14. oldal
5.2. A májak jelölése és csoportosítása	15. oldal
5.3. Laboratóriumi vizsgálatok	16. oldal
5.3.1. Színintenzitás mérés	16. oldal
5.3.2. A máj zöld pigmentanyagának azonosítására irányuló vizsgálat	17. oldal
5.3.3. Fülledésvizsgálat	18. oldal
5.3.4. Mikrobiológiai vizsgálat	19. oldal
5.3.5. Vértartalom vizsgálata műszeresen és szemrevételezéssel	20. oldal
5.3.6. Vervizsgálatok	20. oldal
5.3.7. Alkalmazott statisztikai módszerek	21. oldal
5.3.8. Módszertani kiegészítések	21. oldal
6. Eredmények és értékelésük	22. oldal
6.1. Színintenzitás vizsgálat	22. oldal
6.2. A máj zöld pigmentanyagának azonosítására irányuló vizsgálat	27. oldal
6.2.1. A zsíroldékony színanyagok keresése	27. oldal
6.2.2. Desztillált vizes kioldás	28. oldal
6.2.3. Homogenizálás, centrifugálás eltérő pH értékű foszfát pufferolt só (PBS) oldatokban	29. oldal
6.2.4. A színanyag reakciói, szulfhemoglobin igazolása	31. oldal
6.2.5. A máj felolvasztási exszudátumának fotometriás vizsgálati eredményei és értékelésük	32. oldal
6.3. A fülledés, illetve annak a zöldülésben betöltött szerepe	33. oldal
6.4. Mikrobiológiai vizsgálatok eredményei és értékelésük	35. oldal
6.5. Vértartalom vizsgálat eredményei és értékelésük	35. oldal
6.6. A vervizsgálatok eredményei és értékelésük	36. oldal
7. Következtetések	40. oldal
8. Köszönetnyilvánítás	40. oldal
9. Felhasznált irodalom	41. oldal

1.1. Összefoglalás

A hízott libamáj hazánk prémium export terméke, melynek előállítása a kiskunsági régióban tradíció. A 600-700 g tömegű hízott libamáj mind hűtött, mind pedig fagyasztott formában kerül piacra. A frissen hűtött libamáj megközelítőleg a teljes előállított mennyiség 70%-a, míg a vákuumcsomagolt, fagyasztva tárolt termék adja a fennmaradó 30%-os hányadot. A fagyasztva tárolt termék 24 hónapos szavatossági idővel rendelkezik. Ezen intervallumban véletlenszerűen, kis előfordulási gyakorisággal (2-4%) megfigyelhető egy eddig ismeretlen eredetű zöld színhiba a májakon. A zöld szín kialakulásával kapcsolatosan a hűtőházi fényhatás szerepe, az epe jelenléte és az aerob mikrobiális kontamináció kizárhatónak bizonyult az üzemi technológia szerint. Érdekes módon a szobahőmérsékletre felolvasztott, vákuumcsomagolásból felbontott májon a zöld színhiba spontán megszűnik. Irodalmi adat májra, különösen libamájra e problémakörben nem állt rendelkezésünkre. A TDK dolgozatban bemutatott munka keretében arra kerestük a választ, hogy ezen reverzibilis folyamatot mi okozhatja, mi maga a zöld színanyag, és hogyan küszöbölhető ki a továbbiakban annak megjelenése. Sorozatos színmérésekkel nyomon követtük a máj tárolás alatti zöldülését, meghatároztuk a zöld színanyagot fotometriás módszerrel (májban és máj exsudátumban), ezt követően pedig igazoltuk a fülledés és a szöveti vértartalom szerepét a zöld színhiba kialakulásában. A munka közvetlen módon hozzájárulhat egy komoly gazdasági jelentőséggel bíró delikát termék veszteségének csökkentéséhez.

1.2. Summary

Fattened goose liver is a delicate export product in Hungary, traditionally produced in the Kiskunság region. Most of the produced goose liver (600-700 g) is marketed in a fresh and refrigerated form (ca. 70%), however, ca. 30% is stored frozen in a vacuum packaged form. This product has a shelf life of 24 months. In this interval a randomly and rarely (2-4%) occurring greening has been recorded, with unknown etiology. As possible causes the technology applied precluded the presence of bile, light effects or aerobic microbial spoilage. Interestingly, de-vacuumed and thawed livers at room temperature loose this greening, as a reversible defect. Literature data in this field, with particular focus on goose liver was not available. In this study we analyzed the possible background of this phenomenon; we tried to identify the green pigment and tried to eliminate its occurrence in the future. With serial color measurements we followed up the progress of greening under prolonged storage, we successfully identified the green pigment (in livers and liver exudates), and following this, we outlined the common effects of hydrogen sulfide born stuffiness and the remnant blood content of the liver tissue in the formation of the green defect. This work may directly help to reduce losses occurring in the production chain of a valuable delicates.

2. Bevezetés és a témaválasztás indoklása

Magyarországon a libatartásnak és a hízott-libamájtermelésnek évszázadokra visszanyúló hagyományai vannak. Hazai lúdágazatunkat szezonális jellemzi, a vásárlók elsősorban a Márton-napi, a karácsonyi és a húsvéti ünnepek időszakában fogyasztják a lúd eredetű termékeket, így a májat is. Az év többi részében a kereslet elhanyagolható, mert a prémium terméknek számító libamájat csak egy szűk fogyasztói réteg képes megfizetni.

A hízott máj termelése az ezredfordulótól töretlen emelkedést mutat; maximumát a 2006-2007. évben érte el, 25 ezer tonna körüli mennyiséggel (1. táblázat). A hízott máj, mint termékkör, háromféle víziszárnyas – a lúd, a pézsmaréce és a kettő keresztezésével előállított mulardkacsa – töméses hizlalásával előállított termékeit foglalja magában.

1. táblázat A hízott máj termelés alakulása 2002-2010 között

Ország	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
	tonna							
Franciaország	17 015	16 400	17 500	18 350	19 550	19 500	19 800	18 800
Magyarország	1 800	2 600	2 600	2 600	2 500	2 500	2 500	2 600
Bulgária	1 000	1 280	2 000	1 800	2 000	2 000	2 000	2 300
Izrael	300	300	500	500	100	100	100	100
Spanyolország	250	260	260	n.a.	500	500	260	n.a.

Forrás: CIFO 2008, Euro Foie Gras 2010 és B.T.T adatok, 2011

Az össztermelés az elmúlt öt évben - az állatvédő szervezetek egyre erősebb támadásainak és a töméses hizlalás több országban történő betiltásának következtében - némileg visszaesett, de még így is meghaladja a 20 ezer tonnát. Az 1. táblázatban jól látható, hogy Franciaország hízott-májtermelésben ugyan vezeti a rangsort, az össztermelés 3/4-ét adja, de a termelésük döntően mulardkacsára alapozott, az előállított mennyiségen belül a libamáj csupán körülbelül 5%-ot képvisel. Ehhez képest a Magyarországon éves szinten megtermelt 2.500 tonna hízott májból 1.700-1.800 tonna a libamáj mennyisége, ezzel tehát hazánk világszerte a libamáj-termelésben.

Franciaország mindamelllett, hogy a világ legnagyobb májtermelő országa, egyúttal a legnagyobb fogyasztó is. Birkás (2003) szerint a franciák nyers máj felvásárlása már az ezredfordulón is igen jelentős, 0,35 kg/100 fő volt, míg az összes feldolgozott termékre vonatkozóan 1,3 kg/100 fő értéket mutatott. Ezzel összhangban a franciák kacsamáj fogyasztói szokásait is jól mutatja, hogy 12 éve a nyers termékre eső fogyasztásuk kimagasló 6,02 kg/100 fő mennyiséget ért el, míg a feldolgozott termékekre vetített fogyasztásuk 17,33 kg/100 fő volt.

A hazai fizetőképes kereslet hiányában, a Magyarországon termelt libamáj csaknem 100%-a exportra kerül, - legfőbb felvevőpiaca Franciaország (Kozák, 2011) - ezzel jelentős bevételi forrása az országnak. Habár a magyar libamáj minősége (íze, állaga, konzisztenciája) összességében romlott az 1990-es évekhez viszonyítva, a Magyar Lúdszövetség adataiból megállapítható, hogy minőségét tekintve az összes megtermelt máj közel 50%-a I. osztályú prémium kategóriába tartozik (2. táblázat).

2. táblázat Magyarország libamáj-előállítási és minőségi adatai

	2009.	2010.	2010/09	2009.	2010.	2010/09	2009.	2010.	változás
	db		%	kg		%	átlag tömeg (dkg / db)		dkg
I. osztály	1 028 115	842 916	82,0	743 850	615 931	82,8	72,35	73,07	0,72
%	41,55	39,66		47,78	46,25				
II. osztály	495 820	466 274	94,0	280 849	270 521	96,3	56,64	58,02	1,37
%	20,04	21,94		18,04	20,31				
III. osztály	549 623	641 483	116,7	309 879	386 960	124,9	56,38	60,32	3,94
%	22,21	30,19		19,91	29,05				
IV. osztály	400 665	174 463	43,5	222 099	58 458	26,3	55,43	33,51	-21,93
%	16,19	8,21		14,27	4,39				
Összesen	2 474 223	2 125 136	85,9	1 556 677	1 331 870	85,6	62,92	62,67	-0,24

Forrás: Magyar Lúdszövetség, 2011

Mivel a libamáj összetétele eltér a kacsamajtól és sütési vesztesége is jóval kisebb, mint a mulardkacsamájnak, a francia konzervüzemek elsősorban választékbővítő termékként használják fel és pástétomgyártás alapanyagaként vásárolják meg a libamájat, amelyhez a 600-700 g tömegű, max. 18-20 %-os sütési veszteségű hízott terméket igényelnek. További főbb importőr országaink Belgium, Kína és Japán, amelyek a magyar termékeket preferálják, a távol-keleti piacok igénye ugyanakkor eltér az európai igényektől, a nagyobb tömegű, csontszínű terméket keresi.

A hízott áru minőségét érintő elváltozások a baromfifeldolgozó iparban nem ismeretlenek, ezek közül egyik legjellegzetesebb probléma a vákuumcsomagolt és fagyasztva tárolt libamáj zöldülése. Napjainkban a fogyasztók minőséggel szemben támasztott elvárásai miatt egyre aktuálisabb kérdéssé válik ezen nemkívánatos jelenség megoldása az export-orientált piacon.

A libamáj minőségének javítására és a zöldülés felderítésére irányuló kutatási program keretében az Integrál Baromfifeldolgozó Zrt. a Kaposvári Egyetem Mezőgazdasági Termékfeldolgozás és Minősítés Tanszék Termékminősítő Laboratóriumát bízta meg a jelenség hátterében álló vizsgálatok lebonyolításával, amelybe tanszéki demonstrátorként lehetőségem nyílt bekapcsolódni, ezért választottam tudományos diákköri munkám tárgyául a vizsgálatok bemutatását.

Jelen dolgozatban a fagyasztva tárolt libamáj zöldülésének lehetséges okait vizsgáltuk, megkíséreltük a zöld színanyagot és eredetét azonosítani, illetve ezek alapján esetleges feldolgozás-technológiai módosításokra tettünk javaslatot.

3. Szakirodalmi áttekintés

A különböző állati eredetű termékeken megjelenő, nem romlásos folyamatokból eredő zöld elszíneződés nem ismeretlen jelenség a feldolgozóüzemekben. Ez az elváltozás fagyasztott májkészítményeken is előfordulhat. Ebben a fejezetben a zöldülés hátterében álló és a szakirodalmi forrásokból ismert lehetséges okokat, valamint a máj minőségével szemben támasztott elvárásokat foglalom össze.

3.1. A baromfitermékek zöld elszíneződése

A zöld elszíneződés a fagyasztott májkészítmények esztétikai értékét jelentősen csökkenti. Az elváltozás az általunk vizsgált baromfifeldolgozó üzemben véletlenszerűen fordul elő, a vákuumcsomagolás felbontása után a zöld színanyag eltűnik, oxidáció során vöröses színűvé alakul át, de a vásárló legtöbb esetben nem veszi meg a terméket annak ellenére, hogy az elváltozás egészségkárosodást nem okoz, amennyiben az nem patogén mikrobiális eredetű.

A baromfitermékek, különösen a hús (pulyka - Kijowski és mtsai, 2005) vagy a máj (brojler, Trampel és mtsai, 2005) gyakran mutatnak zöld színhibát, melyre vonatkozóan már igen korai források is fellelhetők (Pennington és Sherwood, 1922; baromfizsír: Kemmerer és Fraps, 1943). Ugyanakkor a máj, kifejezetten a libamáj zöldülésével kapcsolatos szakirodalmi források nem állnak rendelkezésre.

A zöldüléssel kapcsolatban azonban nagyon fontos kiemelni, hogy az elváltozás nem azonos a mikrobiológiai romlással. A zöld színhiba a vásárlói megítélést bár durván rontja, nem feltétlenül jelent kobzásra ítélt terméket. A zöld szín kialakulása a *post mortem* hűtés során is jellemző lehet (marhahús: Nicol és mtsai, 1970), és hasonlóan a dolgozatban elemzett folyamathoz, akár fagyasztva tárolás során is felléphet. A hűtve tárolás alatti zöldülés priméren mikrobiológiai hátterű, Nicol és mtsai (1970) kénhidrogén termelő baktériumokat *Pseudomonas mephitica* törzset azonosítottak. Ezen anaerob törzs kénhidrogént termel, amely a húst alkotó izomrostok mioglobinjával végső soron zöld színű szulfmioglobinná alakul. Kijowski és mtsai (2005) fagyasztva tárolt pulyka húsan azt tapasztalták, hogy a zöldülés felengedés vagy felolvasztás során reverzibilis folyamat során megszűnik. A szerzők arra is felhívták a figyelmet, hogy tradicionális feldolgozási protokoll, nevezetesen a belezés nélkül történő "érlelés", fokozza a pulykahúsban a zöld színhiba előfordulási gyakoriságát.

Előbbiek alapján tehát, a zöld szín kialakulásának hátterében kénhidrogén és különböző pigmentanyagok együttes jelenléte áll. A kénhidrogén, eredetét tekintve lehet endogén eredetű, pl. a nem frissen felbontott testben a gasztrointesztinális traktusból átdiffundáló gáz, illetve származhat mikrobiális tevékenységből, különösen anaerob törzsek jelenlétekor. Barnes és Shrimpton (1957) korai megfigyelései szerint a nem frissen bontott testben a kénhidrogén az izomeredetű mioglobinnal szulf-származékot, egész pontosan szulfmioglobint képez, ez okozza a hús zöld hibáját, amely már késleltetett bontáskor is megfigyelhető. Fontos megjegyezni, hogy a kénhidrogén nemcsak a mioglobinnal reagál, hanem hemoglobinnal is. Utóbbival képzett vegyülete a szulfhemoglobin, ami jól ismert anyag, annak azonban elsősorban humán orvosdiagnosztikai vonatkozásai ismertek (szulfhemoglobinémia: Flexman és mtsai, 1972). Fontos további kiegészítés, hogy a hús vagy egyéb termékek felolvasztási vagy spontán csepegési exszudátuma mind hemoglobint, hús esetében pedig mioglobint tartalmaz, azaz a zöldülés nem magához a termékhez, hanem annak exszudátumához is köthető (Nicol és mtsai, 1970).

Irodalmi adatok alapján a húsok zöldülése hidrogén-szulfidhoz (H_2S) köthető (Gill és mtsai, 1982). A H_2S reakcióba lép a mioglobinnal, és zöld színű szulfmioglobint képződik. További irodalmi források szerint is a H_2S -hoz, illetve a *Pseudomonas mephitica* baktériumhoz köthető a zöld elszíneződés, mely utóbbi baktérium 5,9 pH felett, valamint oxigénszegény környezetben aktívan működik. Feltehetően ugyanez a folyamat zajlik le a vákuumcsomagolt – oxigénszegény környezetben – májban, a hemoglobin és szulfhemoglobin (illetve hidrogén-szulfid) esetében.

Mivel a szakirodalmi források több ízben a vágási és feldolgozási technológia szerepét is nevesítik a zöld elszíneződés kialakulásában, ezért a következőkben a víziszárnyasok feldolgozásának főbb jellemzőit mutatom be.

3.2. A víziszárnyas-feldolgozás sajátosságai

A vágóbaromfi fogalom jelenti a különböző baromfifajok azon csoportját, amelyek vágásérettek, technológiai feldolgozásra és fogyasztói felhasználásra alkalmasak, valamennyi minőségi tulajdonságuk megfelel a Magyar Élelmiszerkönyvben (húskészítmények: 2-13 kötet) leírtaknak (Jankóné, 2006).

A májlibák vágási kora a tömésbe állítási kortól függ. Amennyiben a máj és hús előállítás a fő szempont a termelő számára, az állatokat 9-10 hetesen állítják tömésbe. A töméses hizlalás kezdete tolódik, ha az állatokat a tömés előtt egyszer, vagy akár többször tépik. Nagyüzemi, májtermelésre

irányuló termelési körülmények között a tollszedés nem cél. A hazai gyakorlatban a májhasznú lúd tömésbe állítása 9-10 hetesen történik, maga a tömési időszak pedig 16-22 napig tart (Bogenfürst, 2000), a tömés végére a libamáj pedig elérheti az átlagos 600-800 g-ot (Locsmándi, 2007).

Mint minden állat esetében, a ludaknál is ügyelni kell az állatokra a befogás és szállítás során. Esetleges sérüléseket, ütődéseket el kell kerülni, így csökkenthető a máj bevérvése, repedése, károsodása. Buckland és Guy (2002) szerint a madaraktól a vágás előtt legalább 8 órával meg kell vonni a takarmányt, és csak vizet fogyaszthatnak, de tapasztalataink szerint ezt a takarmánymegvonást a gyakorlatban nem alkalmazzák, mert az intenzív hizlaláshoz/töméshez szokott állatok igen hamar mobilizálják májuk zsírtartalmának egy részét, így az elsődleges termékük, a máj mérete és minősége csökken.

A lúd vágása, és bontása során a baromfifeldolgozás (pecsenyecsirke, tyúkfélék) munkafolyamatától eltérő, illetve új elemek jelennek meg. A hagyományos baromfifeldolgozás főbb lépései a következők (Nagy, 2006):

1. Az ún. szennyes övezet műveletei a technológia lépések sorrendjében:

- függesztés
- kábítás
- elvéreztetés
- forrázás
- kopasztás
- ellenőrzés és osztályozás
- kézi utótisztítás és nyakbőr felvágása
- fej-, nyelőcső- és légcsőeltávolítás
- testmosás
- lábvágás és lábeltávolítás
- horogmosás

2. A baromfifélék feldolgozásának technológiája az ún. tiszta övezetben

- testfelnyitás és zsigerelés
- állatorvosi ellenőrzés
- belsőségek gyűjtése, feldolgozása, csomagolása
- nyakroppantás
- végellenőrzés, testmosás

- testkioldás
- osztályozás II (testek)
- előhűtés
- fagyasztás

3. Csomagolás

Amint arra már utaltam az előzőekben, a víziszárnyasok feldolgozása a felsorolt műveletekhez képest néhány ponton eltér, ilyen például a paraffinozás. Mivel a liba tollazata erőteljes és pihével dúsán fedett, bőre gyakran tokos, ezért nem elegendő a hagyományos forrázás és kopasztás, hanem paraffinozás alkalmazása szükséges. A paraffinozó berendezés négy fő részből: olvasztó-, mártó- és dermesztő kádából, valamint a paraffin visszanyerésére szolgáló paraffin-regeneráló egységből áll. A testet olvasztott paraffinba mártva az vékony rétegben rátapad, majd hűtéssel rádermesztik. A műveletet legtöbbször a kopasztás után végzik. A feldolgozás során használt paraffinkeverék alacsony olvadási- és dermedéspontú, viasszerű anyag. Az állat testén gyorsan szárad, a képződött réteg a megkeményedés után törekeny és nem ragacsos, a hús nem veszi át a szagát, az emberi egészségére nézve ártalmatlan. Mivel a paraffin jól bírja az olvasztást, így ismételt felhasználásra is alkalmas, amivel a felhasznált paraffin mennyisége is csökkenthető.

További technológiai különbség az előhűtés és a bontás metodikája. Az általunk vizsgált baromfifeldolgozó üzemben a víziszárnyasokat a vágás, kopasztás főbb műveletek után bontás nélkül, rozsdamentes tálcára helyezik, majd 24 óra alatt +3 °C-ra előhűtik. Ezután távolítják el a belsőségeket, és végzik a darabolást, majd a bontott májakat jéggel teli vízbe merítik, melynek főbb okait a későbbiekben említem meg. Az FVM támogatásával kiadott útmutatóban leírt jogszabályok szerint (Berczeli, 2006) mind a jeget, mind pedig a vizet megfelelő időközönként mintázni kell, és bevizsgálni. A bontás után a májakat olyan gyorsan le kell hűteni, amilyen hamar csak lehet, ezzel a művelettel jobb minőségű májat kaphatunk, mely a konyhatechnológiai elkészítése során kevesebb zsírt veszít (Buckland és Guy, 2002).

A hosszabb eltarthatóság érdekében a hízott májat általában vákuumcsomagolják az üzemekben. Törekedni kell arra, hogy a csomagolásra felhasznált műanyag fólia teljesen rátapadjon a májra, így megakadályozva az esetleges fagyási sérülés kialakulását. Buckland és Guy (2002) szerint ez a művelet úgy tökéletesíthető, ha 80-90 °C-os vízbe hirtelen bemártjuk a már csomagolt terméket. Az így elkészített hízott libamáj -60 °C-on körülbelül 12 hónapig tartható el, míg -20 °C esetén ez az idő körülbelül 6-7 hónapra csökken.

3.3. A hízott máj zsírtartalma és összetétele

A máj elzsírosodását tévesen gyakran zsírmáj szindrómának nevezik. Mourot és mtsai (2002) szerint azonban a kiemelkedő májtermelő képesség háttérében a fokozott lipogenezis áll, amelynek során a májsejtekbe triglicerid rakódik. Ez a folyamat a májhasznú ludak esetében többszöröse a nem májhasznú lúdfajtákhoz viszonyítva. Ahhoz, hogy a máj befogadóképessége, rugalmassága fokozódjon, ún. pregavage („előtömés”, tömés-előkészítés) eljárást alkalmaznak. A módszer lényege, hogy az állatoknál a tömést megelőző – általában hetes – időszakban vagy a takarmányfelvételi időt, vagy a felvehető takarmány mennyiségét korlátozzák, így azok „kiéhezett” állapotban, rövid idő alatt a szokásos adag többszörösét veszik fel. Az eljárás hatására egyrészt a nyelőcső jelentősen kitágul, ami végeredményben lehetővé teszi a tömés alatti nagy mennyiségű takarmányadagok bejuttatását, másrészt befolyásolja a hízott áruban felhalmozódó zsírcseppek méretét és eloszlását is (Áprily, 2009).

A jól előkészített, megfelelő tömési technológiával, hozzáértő szakember által tömött, egészséges, lúd mája a tömési időszak végére akár a kiindulási méret (80-100 g) nyolc-tízszeresére is megnőhet, beltartalmi értékei pedig a 4. táblázat adatai szerint alakulnak. A hizlalás során fontos cél, hogy a májak zsírtartalma 50-55% (Guy, 2000) körüli legyen, az ennél nagyobb értékek esetén a máj zsírtartó kapacitása lecsökken és tényleges, visszafordíthatatlan zsírmáj szindróma léphet fel (májsejtek ruptúrájával), ami a sütési veszteséget sokszorosára növeli. A jelenség a 800 g fölötti tömegű hízott májak esetén gyakori jelenség, a francia piac többek között ezért sem igényli a nagyméretű májat.

A hízott máj minősége technológiai szempontból akkor megfelelő, ha a feldolgozása során a sütési veszteség nem éri el a 13,9 %-ot. Ez a tulajdonság a pástétom-készítés során fontos, mivel a magas hőmérsékleten végzett konzervsterilizálás a zsír nagy részét kiolvaszthatja, amely a termék felszínén összegyűlve, rontja annak minőségét (Bogenfűst, 1999).

4. táblázat: A hízott libamáj összetevőinek százalékos aránya

összetevők aránya (%)	
Víz	32,7
Fehérje	8,3
Hamu	0,7
Egyéb anyagok	3,7
Zsírtartalom	54,6
Trigliceridek	92,2
Foszfolipidek	3,5
Szabad zsírsavak	1,0
Összkoleszterin	3,2

Forrás: Salichon és mtsai., 1994

3.4. A máj minősítése

Hazánkban a friss, nyers és a friss, jegelt máj minőségére vonatkozó előírásokat a Magyar Élelmiszerkönyv II. kötetének 2-13 fejezete tartalmazza. A minősítés a tömeg alapján objektív, a szín megítélése azonban érzékszervi bírálaton alapul, így szubjektív elemekkel terhelt. A szubjektivitás kiküszöbölésére Horváthné és mtsai (2002) műszeres vizsgálatot dolgoztak ki. Az osztályozást végző készülékhez speciális, tűvel ellátott mérőfejet alakítottak ki, mely az értékes termék roncsolás-mentes vizsgálatát és minősítését teszi lehetővé. A mérés során a máj állományát jellemző mutatók határozhatók meg (pl. keménység, adhéziós erő, stb.). A szerzők által kidolgozott műszeres állományvizsgálat fontos kiegészítője lehetne a hagyományos kézi májosztályozásnak. A vágóhídi gyakorlatban azonban nem vezették be a készülék használatát, jelenleg kézi osztályozással minősítik a hízott májat: tömege, állaga, színe és épsége alapján. Az export-minősítő rendszernek a máj minősítésében fontos szerepe van és szigorú követelményeket támaszt a hízott liba és kacsamájjal szemben (Birkás, 2003).

3.5. Mikrobiológiai jellemzők

A baromfifeldolgozó üzemekben az egyik legfontosabb és egyben a legérzékenyebb terület az élelmiszerbiztonság. A megfelelő technológiai tisztaság igen lényeges, különösen olyan termék esetében, amelyeket egyes kultúrákban nyersen is fogyasztanak (a japánoknál például ilyen termék a máj). A feldolgozóüzemben a baromfi-termékek – esetünkben a libamáj – több helyről és ponton szennyeződhetnek. Amint arra már a 3.2. fejezetben utaltam a víziszárnyasok testét a hagyományos baromfifeldolgozás technológiájától eltérő módon bontják. A zsigereletlen test 24 órán keresztül történő hűtése során fennállhat az a veszély, hogy a máj a bélből is befertőződik. Turcsán (2005) szerint a víziszárnyasok bélrendszeréből izolált főbb aerob baktériumok az *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Bacillus*, ill. *Pseudomonas* törzsekbe tartoznak. Mindemellett bármi, a testtel, illetve májjal érintkező eszköz mikrobiológiai kockázatot jelenthet, ezért a bontást végző személyek jó egészségi állapotára, ruházatára, a gépek, szalagok és bontó-eszközök sterilizálására fontos ügyelni, ezzel ugyanis csökkenthető az esetleges befertőzés valószínűsége. Az FVM támogatásával készült útmutatóban (Berczeli, 2006) leírt jogszabály kimondja, hogy minden személy, aki az élelmiszerrel érintkező területen dolgozik, köteles magas fokú személyi higiéniát fenntartani, valamint megfelelő, tiszta öltözetet, és szükség szerint védőöltözetet viselni. A személyi higiéniához tartozik, a meleg folyóvízben történő gyakori kézmosás, illetve kézfertőtlenítés.

A szakirodalmi adatok és a feldolgozó üzemi tapasztalatok ismeretében egy eddig nem leírt folyamat felderítés volt a célunk, ahol elsődlegesen a máj, majd azt követően az abból származó exszudátum vizsgálatát tűztük ki célul. Vizsgálataink során a hidrogén-szulfid lehetséges kettős eredetének tisztázására is kitérünk, hiszen mind a mikrobiális, mind pedig a bél-eredetű kénhidrogént elemeztük.

4. Célkitűzések

Jelen dolgozatban a fagyasztva tárolt libamáj zöldülésének lehetséges okait vizsgáltuk, megkíséreltük a zöld színanyagot és eredetét azonosítani, illetve ezek alapján esetleges feldolgozás-technológiai módosításokra tettünk javaslatot. Ennek érdekében:

- a fagyasztásos tárolás során ismételt színméréssel követtük nyomon a zöldülés korábban csak szubjektíven megítélt alakulását;
- fotometriás módszerrel méréseket végeztünk a zöld pigmentanyag meghatározására a májból és a fagyasztott tárolást követő felolvasztás során keletkező exszudátumból és
- vizsgáltuk továbbá az esetlegesen fellépő *post mortem* fülledés mértékét, illetve annak a zöldülésben betöltött szerepét.

5. Anyag és módszer

5.1. A májak eredete, csomagolása és tárolása

Vizsgálatainkat 2012 januárjában kezdtük meg, a libamájakat az INTEGRÁL Baromfifeldolgozó Zrt. bocsátotta rendelkezésünkre. A feldolgozó üzem részben a saját telepeiről származó víziszárnyasokat, másrészt a velük integrációban álló magyar termelők által előállított hízott libákat és kacsákat vásárol fel, termékeivel a hízottáru piac több, mint 40%-át fedi le. Az üzem jelenleg Magyarország egyik legkorszerűbb víziszárnyas-feldolgozó üzemének számít. 1990-ben jelentős beruházással rekonstrukciót hajtottak végre, ami elsősorban a csomagolástechnológia fejlesztését jelentette, és amellyel céljuk a vevők minőséggel szemben támasztott követelményeinek kielégítése volt. Néhány évvel később – 1997-98-ban – átalakításra került az akkori vágóvonal, modern, holland gyártmányú gépsort üzemeltek be, továbbá új bontó-, daraboló gépek, korszerű előhűtő- és fagyasztó helyiségek, valamint új májfeldolgozó üzemrész is átadásra került. Az üzemben a víziszárnyasoknál megszokott, hagyományos vágási technológiával dolgoznak, a zsigeretlen testeket rozsdamentes tálcára helyezve 24 órán át előhűtik +3 °C-ra. Ezután történik a zsigerelés, és a máj bontása. Az előhűtés célja az, hogy a májat sérülésmentesen lehessen kezelni, alakja ne deformálódjon. Előhűtés nélkül – test- illetve szobahőmérsékleten – a májak állaga lágy, fizikai behatásra könnyen károsodik a szerkezete. A májakat a bontás után közvetlenül, +3 °C-on osztályozzák formájuk, erezettségük, színük, állaguk és méretük függvényében. Az első osztályú májakat jeges fürdőben áztatják, így a szervben lévő vér nagy részét el tudják távolítani. Az üzem termékpalettája széles, az egész liba- és kacsamájon kívül keletkező további termékek az erezett máj, a darabolt máj, a kézzel azonos méretűre vágott májszeletek, a libamáj-blokk és az erezés mellékterméke a májpép. A feldolgozó üzemben a májakat szállítoszalagra helyezik, ami nitrogénhűtésű alagúton vezeti át azokat. Ezután a májakat polietilén zacskókba helyezik és vákuumcsomagolják. A feldolgozó üzemben az összes előállított termék 30%-át ily vákuumcsomagolással csomagolják, amely módszer lényege, hogy a terméket egy speciális (gáz és vízzáró, átlátszó és hegeszthető) fóliába helyezve, az abban lévő levegőtartalmat eltávolítva, oxigénhiányos környezetet hoznak létre. A fólia ezzel szorosan a termékre simul, az áru kisebb helyen is elfér a tárolás során és az oxigénszegény környezetben a termék eltarthatósága is jelentősen megnő, mivel az aerob baktériumok életfeltételeit megszünteti. A kész termékeket ezután felcímkézve, kartondobozokban tárolják fagyasztott állapotban.

Vizsgálatainkat két libamáj mintacsoporton (n=25; n=35) végeztük el. A májminták a fent említett baromfifeldolgozó vállalattól származtak, melyeket az üzemben vákuumcsomagoltak, majd fagyasztva (-20°C), illetve hűtve (+ 4°C alatt) tároltak. Az első vizsgálati csoportban hagyományos

eljárással bontott, fagyasztva tárolt májakat vizsgáltunk (n=25). A második csoportban a rendelkezésünkre bocsátott májakat különböző bontási technológiával állították elő. Vizsgálatainkban szerepelt hagyományos vágási technológiával előállított (24 órát előhűtött majd bontott), fagyasztva tárolt, illetve hűtőszekrényben hűtve tárolt termékek, valamint a vágást követő 2 órán belül bontott, szintén hűtve tárolt májak is. A csoportok között eltérő arányban oszlott meg a zöld elszíneződést mutató (n=14) és a normál színű (n=21) minták, melyeket szemrevételezés után binárisan kódoltunk (1: zöld, 2: nem zöld).

Az alábbiakban részletezett vizsgálatokat a Kaposvári Egyetem Állattudományi Karának Mezőgazdasági Termékfeldolgozás és Minősítés Tanszék Termékminősítő Laboratóriumában végeztük. A mérések ideje alatt a májakat fagyasztott állapotban (-20°C) tároltuk.

5.2. A májak jelölése és csoportosítása

A mintákat az üzemben sorszámokkal látták el, így a mérésben résztvevő személyek számára az állatok takarmányozása, a hízott májak előállításának módja, illetve a májak eredete ismeretlen volt. Az első, 25-ös mintacsoport 20 mélyhűtve tárolt, zöld és 5, hasonlóan tárolt, de nem zöld májból állt. Ezeken a mintákon zöld színanyag azonosítást, fülledés-vizsgálatot és vértartalom meghatározást végeztünk el. A második, 35 mintából álló csoporton részletes műszeres színmérést, fülledés-vizsgálatot, mikrobiológiai vizsgálatot, vértartalom meghatározást és a felolvadás során keletkező exszudátumból színanyag-azonosítást végeztünk.

A baromfifeldolgozó üzemben 4 vizsgálati csoportot alakítottak ki a második, 35 mintából álló sorozatra vonatkozóan:

- 2h előhűtést követően bontott, nem fagyasztott (továbbiakban 1-es csoport) (n=10)
- 24h előhűtést követően bontott, nem fagyasztott (továbbiakban 2-es csoport) (n=10)
- kontroll, fagyasztott (továbbiakban 3-as csoport) (n=5)
- zöld elszíneződést mutató fagyasztott májak (továbbiakban 4-es csoport) (n=10)

A zöldültség fokának és mértékének megítélése igen szubjektív, ezért szükségesnek éreztük az üzemben kialakított csoportok újracsoportosítását. Hipotézisünk és előzetes eredmények alapján a zöld színhiba mellett a fülledést is csoportképző faktorként alkalmaztuk. Tehát a 2. sorozatból származó májakat (n=35) a vizsgálataink kezdetén szemrevételeztük, színük alapján két csoportra osztottuk őket: zöld, nem zöld. Miután elvégeztük a fülledés-vizsgálatot (fülledt, nem fülledt), a szemrevételezés eredményével kombinálva az alábbi 4 csoportot képeztük:

- nem fülledt, nem zöld (továbbiakban A csoport) (n=19)
- nem fülledt, zöld (továbbiakban B csoport) (n=7)
- fülledt, zöld (továbbiakban C csoport) (n=7)
- fülledt, nem zöld májak (továbbiakban D csoport) (n=2)

Tehát az első és második négyes csoportokban ugyanaz a 35 májminta szerepel, de különböző csoportosítási tényezőkkel. Vizsgálataink során a fent leírt két négyes csoportot külön-külön halmazként kezeltük és értékeltük.

5.3. Laboratóriumi vizsgálatok

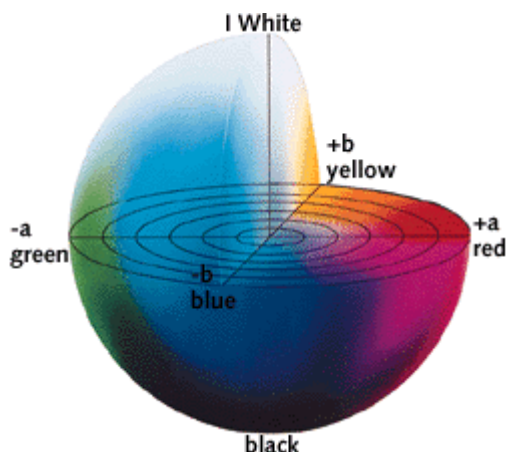
5.3.1. Színintenzitás mérés

A 2. májmintacsoporton (n=35) 8 héten keresztül színintenzitás mérést hajtottunk végre a hetek azonos napján Minolta Chromameter CR-300 készülékkel (fényforrás: D65). A mérésekhez mélyfagyasztott májakat a fagyasztószekrényből kivéve, letakarva, fényszegény környezetben vizsgáltuk. Az első mérések alkalmával jelöltük ki a mérési pontokat, melyek a további vizsgálatoknál a mérési helyéül szolgáltak. Az esetlegesen képződő párákat közvetlenül a mérés előtt letörölve minimalizáltuk a torzító hatást. A vizsgálathoz a teljes májból sík metszéspapírra darabot vágunk le, melyet a laboratóriumban azonnal, még fagyos állapotban újra vákuumsomagoltunk.

A feltételezésünk az volt, hogy a tárolás alatt kialakuló zöld színanyag a tárolási idő előrehaladtával fokozatosan alakul ki, tehát a világosabb színárnyalatától a sötétebb színárnyalat felé idővel eltolódhatnak a mért értékek (az ún. a^* érték csökkenése ugyanis a zöld szín irányába történő eltolódást jelent).

A készülék az eredményeket numerikus formában adja meg, melyeket három betűhöz (L^* , a^* , b^*) csatol, és amelyek egy háromdimenziós gömb-színkoordináta rendszerben jeleníthetők meg. (1. kép: CIELAB színrendszer – CIE, 1924).

Az L^* érték a sötét és világos tengely mentén mozog, az a^* érték a vörös és zöld, a b^* érték pedig a sárga és a kék tengelyeken ábrázolható. Az aktuális színállapot vizuális megjelenítésére a fénykép mellett az EasyRGB internetes program (<http://www.easyrgb.com/index.php?X=CALC>) által rekonstruált színárnyalatokat használtuk.



1. kép L*, a*, b* színskála

<http://www.sapdesignguild.org>

5. táblázat A színingerkülönbség (láthatóság) kategóriái

ΔE^*	Eltérés az egymást követő mérési időpontok között
0-0,5	nincs különbség
0,5-1,5	alig észrevehető
1,5-3	észrevehető
3,0-6,0	jól látható
6,0-12	nagy különbség

A kapott adatokat az IBM SPSS.Statistics 20.0 for Windows (2012) statisztikai programmal értékeltük. A csoportok közötti összefüggéseket diszkriminancia-analízissel, egy- illetve többtényezős varianciaanalízissel elemeztük. Az egymást követő mérési időpontok szín-adatai közötti szabadszemmel látható differenciát, az ún. színinger-különbséget (ΔE^*) a $\Delta E_{ab} = \sqrt{(L_2 - L_1)^2 + (a_2 - a_1)^2 + (b_2 - b_1)^2}$ (http://en.wikipedia.org/wiki/Color_difference) képlettel számoltuk ki. Tehát 1 minta esetében a 8 mérési időpont között 7 ΔE^* értéket tudunk számolni. A kapott eredményeket az 5. táblázat alapján értékeltük.

5.3.2. A máj zöld pigmentanyagának azonosítására irányuló vizsgálat

Alapvetően kevés információ állt rendelkezésre a pigmentanyag vonatkozásában, ennek megfelelően közvetlenül májmintákból és a máj felolvadási csepegési levéből (a továbbiakban exszudátum) történtek mérések. Tekintettel arra, hogy a pigment látványosan zöld, ezért fotometriás módszertant alkalmaztunk, ehhez azonban először oldatba kellett vinni a zöld színanyagot.

A spektrumokat 850-300 nm tartományon vettük fel, minden esetben releváns vakkal szemben, 10 mm optikai üveg vagy műanyag küvettában (az oldószertől függően), Shimadzu UV 1800 készüléken.

Vizsgálataink négy fázisban a következő sorrendet követték:

A: az anyagi minőségre, illetve oldhatóságra vonatkozóan

1. zsírban oldódó színanyagok keresése, zsíroldószerekkel
2. vizes oldás
3. fehérje szolubilizáció, pH függés elemzése

B: májmintára vonatkozóan

1. egy zöld és egy nem zöld máj mintázása
2. egyazon zöld máj zöld és nem zöld területeinek mintázása

C: a mintafeltáráshoz szükséges lépések (2 g minta 25 ml oldószerben)

1. áztatás, zsíroldószerekben
2. homogenizálás és vákuumszűrés
3. homogenizálás és hűtött centrifugálás, anaerob körülmények

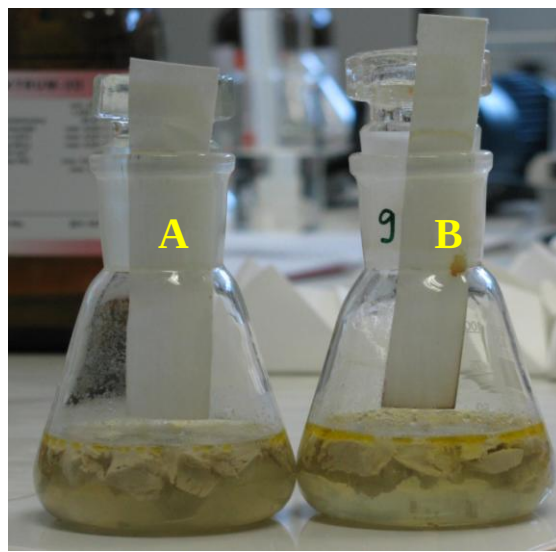
D: máj olvasztási exszudátum vizsgálata

5.3.3. Fülledésvizsgálat

Az esetleges fülledés megállapítására a májakon ólomnitrát-próbát (Százados, 1995) végeztünk el. Ezzel az eljárással kizárólag a fülledés tényét lehet megállapítani, a módszer kvantitatív meghatározásra nem alkalmas. Hipotézisünk szerint a májak enyhe fülledése és a májban levő vértartalom együttesen járulhat hozzá a zöld színanyag kialakulásához. A fülledés-vizsgálatot (2. kép) a húskészítményeknél előírt módon végeztük el.



2. kép Fülledés-vizsgálat



3. kép: Ólom-nitrát próba

A fülledés-vizsgálathoz körülbelül diónyi méretű májdarabokat késsel felaprítottunk, majd 100 ml-es Erlenmeyer-lombikba rétegeztük 1 ujjnyi vastagságban. Ezután annyi 5%-os kénsavoldatot öntöttünk rá, hogy éppen ellepje a májdarabokat. A lombik szájához a dugóval 10%-os ólom-nitráttal átitatott szűrőpapírcsíkot helyeztünk, a kénsavoldattól 1-2 mm távolságra. Az esetlegesen fülledt mintákból 15-20 perc alatt felszabaduló H_2S hatására a szűrőpapír megbarnul, vagy megfeketedik a képződő ólom-szulfidnak köszönhetően. A mintákat ezután binárisan kódoltuk (3. kép): 0: nem fülledt ('A' jelű minta), 1: fülledt ('B' jelű minta).

5.3.4. Mikrobiológiai vizsgálat

Mivel a fülledést is okozó kénhidrogén mikrobiális eredetű is lehet, ezért kénhidrogén termelő baktériumok kimutatására irányuló mikrobiológiai vizsgálatokat is végeztünk, közvetlenül a vákuumcsomagolás felbontását követően, a többi vizsgálatot megelőzve. A 6. táblázatban láthatók a vizsgált jellemzők és vizsgálati módszerek, melyeket a megfelelő szabvány szerint a Kaposvári Egyetem Élettani és Állathigiéniai Tanszék munkatársai végezték el. A módszerek közül véletlenszerűen kiemelném a *β -glükurondiáz pozitív *E. coli** megszámlálására vonatkozó horizontális eljárás bemutatását. A telepek számlálása chromogén alkotórészt tartalmazó (Tryptone-epe-glükuronid) szelektív táptalajon végezhető el +44 °C-os inkubálás után. A táptalajban lévő chromogénszubsztrátot beépíti az *E. coli*, amelyet a β -D-glükuronidáz enzim hasítja. A folyamat során kékeszöld színű telepek formájában növekszik a baktériumtelepek száma. Azonban a Gram pozitív baktériumok növekedése meggátolt a viszonylag magas hőmérsékletnek és az epesavas sóknak köszönhetően.

Első lépésben alap szuszpenziót kell készíteni a májmintákból, majd a szuszpenzióból decimális hígítási sort állítanak elő. A hígítási sorból kimérik a szabványban megadott mennyiségeket (ml) steril Petri-csészékbe, ezután megismételik ezt a lépést a megadott, megnövelt mennyiségekkel. A +44-47 °C-ra hűtött táptalajt a kimért szuszpenziókra öntik, azzal elkeverik, majd miután megszáradt, +44 °C-on, 20 órán keresztül inkubálják. Az inkubálás után megszámlálják a telepeket, ugyancsak a szabványban leírtaknak megfelelően, amely képlet többek között számításba veszi az inokulum (oltóanyag) térfogatát is.

6. táblázat Vizsgált jellemzők és vizsgálati módszerek

Vizsgált jellemző, vizsgálat típusa	Vizsgálati módszer azonosítója
<i>β-glükurondiáz pozitív E. coli</i> száma (telepszámlálási módszer 44 °C-on)	MSZ ISO 16649-2:2005
Enterobaktériumok száma (telepszámlálási módszer)	MSZ ISO 21528-2:2007
Koaguláz pozitív <i>Staphylococcus</i> ok száma (Baird-Parker-agar táptalajos eljárás)	MSZ EN ISO 6888-1:2008
<i>Clostridium perfringens</i> szám meghatározása (telepszámlálási módszer)	MSZ EN ISO 7937:2005
<i>Pseudomonasspp.</i> kimutatása (kimutatásos módszer)	MSZ EN ISO 13720:2011

5.3.5. Vértartalom vizsgálata műszeresen és szemrevételezéssel

A májban lévő vértartalom meghatározására további analíziseket végeztünk (n=35), a májminták kivéreztettségének meghatározása céljából. A vizsgálati módszertan a következő volt:

10 g homogenizált mintát 100 ml-es csiszolatos jódszámlombikba mértünk, majd a minta víztartalmának figyelembevételével 1:4 arányú aceton:víz oldószerközeget állítottunk elő. Ezt követően 0,5 ml cc. sósavat adtunk az elegyhez, majd erősen összeráztuk és szobahőmérsékleten 2 órán át állni hagytuk. Ezen oldatból pontosan 20 ml-t térfogatjellel ellátott csiszolatos kémcsőbe szűrtünk szűrőpapíron át, majd ehhez 1 ml triklóretilént adtunk. A kémcsövet ezt követően ledugóztuk és erősen összeráztuk. A spektrofotometriás mérést (Shimadzu UV 1800) desztillált víz vakkal szemben végeztük, 530 nm hullámhosszon. A mennyiségi meghatározáshoz szükséges kalibráció hemin-HCl felhasználásával készült. A koncentrációt mg pigment/g máj mennyiségben adtuk meg.

5.3.6. Vérvizsgálatok

Összesen 100 tömött liba levágásakor vért vettünk, minden madártól. A májakat vákuumcsomagolva, az üzemi technológia szerint tároltuk, míg a vérmintákból alvadás után a szérumot -70 °C-on tároltuk. A vizsgálat arra irányult, hogy leírható-e valamilyen eltérés a tárolás alatt zölddé alakuló, illetve a színhibát nem mutató májakhoz társított, egyedileg azonosított vérminták között. Az üzemi technológusok szerint a réz (rézszulfát) etetés nem kizárható, melyre vonatkozóan külön kitért az analízis. Köztudott ugyanis, hogy a réz nagy koncentrációban hepatopátiát okoz, melyet hagyományosan alkalmaztak is a töméses hizlalás során.

5.3.7. Alkalmazott statisztikai módszerek

A mérési adatokat minden esetben IBM SPSS Statistics 20.0 for Windows (2012) szoftverrel elemeztük. A színtkomponensek alapján végzett csoportosításhoz diszkiminancia-analízist, a színtkomponensek csoportonként eltéréseinek elemzésére pedig egy-, illetve többtényezős varianciaanalízist alkalmaztunk. A vérvizsgálatnál a csoportok közötti független, kétmintás t-próbára alapozott összevetést végeztünk el. A fülledés és a vértartalom zöld színre gyakorolt hatását logisztikus regresszióval elemeztük.

5.3.8. Módszertani kiegészítések

Hízott libák esetében az epe eredetű felületi szennyeződés kizárható, mivel a vágást megelőző koplaltatási idő rövidege miatt az epehólyag a legtöbb esetben kiürül. Mindezek következtében az epefolyadék festő hatását nem vizsgáltuk.

6. Eredmények és megbeszélések

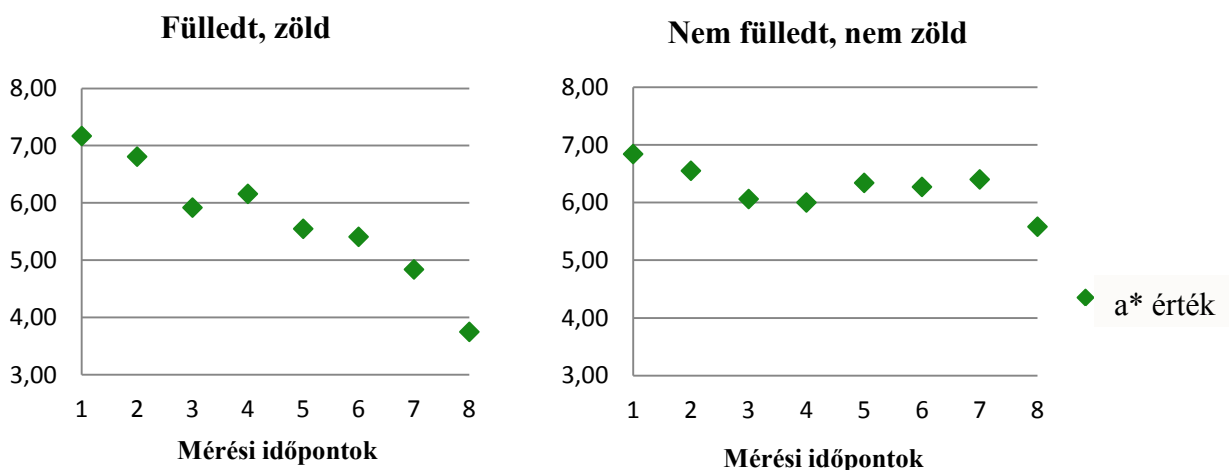
6.1. A színintenzitás vizsgálat eredményei és értékelésük

A színintenzitás méréshez használt májak metszésfelületén jól látható volt a sok vérrel telt ér. Az újravákuumozást követően az erek környékén kezdődő zöldülés volt megfigyelhető, melyekből arra lehet következtetni, hogy a vértartalom befolyásolja a zöld színhiba kialakulását. A 4. képen egy fagyasztott, vákuumcsomagolt libamáj metszéslapja látható. A fekete négyzetben kinagyítottuk a vérereket, a piros ellipszisek pedig zöld elszíneződést mutató területeket fognak körbe.



4. kép Egy zöld elváltozást mutató máj metszéslapja

Azoknál a májaknál, ahol a zöld színeződés megfigyelhető volt a mérési időszak elején is, a készülék által mért numerikus értékek színskálán történő ábrázolásával egyirányú mozgás figyelhető meg. Az a^* értékek látványosan csökkennek, ami a vörös-zöld szintengelyen a zöld irány felé jelent eltolódást. A véletlenszerűen kiválasztott fülledt és zöld elszíneződést mutató, valamint a nem fülledt és nem zöldült májakat grafikonon ábrázolva (1. ábra) jól látható az a^* érték fokozatos csökkenése a zöldült májmintán.



1. ábra A kiválasztott májminták színintenzitásának változása a mérési időszak (hetek) alatt

A csoportosítástól függetlenül az összes minta esetében kiszámított ΔE -értékek (35 minta x 7 ΔE -érték = 245 ΔE -érték) megoszlása jól mutatja (7. táblázat), hogy azok 70,6%-a észrevehető, vagy annál nagyobb mértékű eltéréseket mutat az egyes mérési időpontok között. Ez a változás a mérési időszak előrehaladtával szabad szemmel is jól követhető volt. Kiszámoltuk a 8 mintacsoport átlagos ΔE -értékeit, melyeket szintén elhelyeztünk a táblázatban. A csoportok között azonban nem kaptunk szignifikáns különbséget, ami arra utal, hogy a színintenzitás változás viszonylag egyenletes volt.

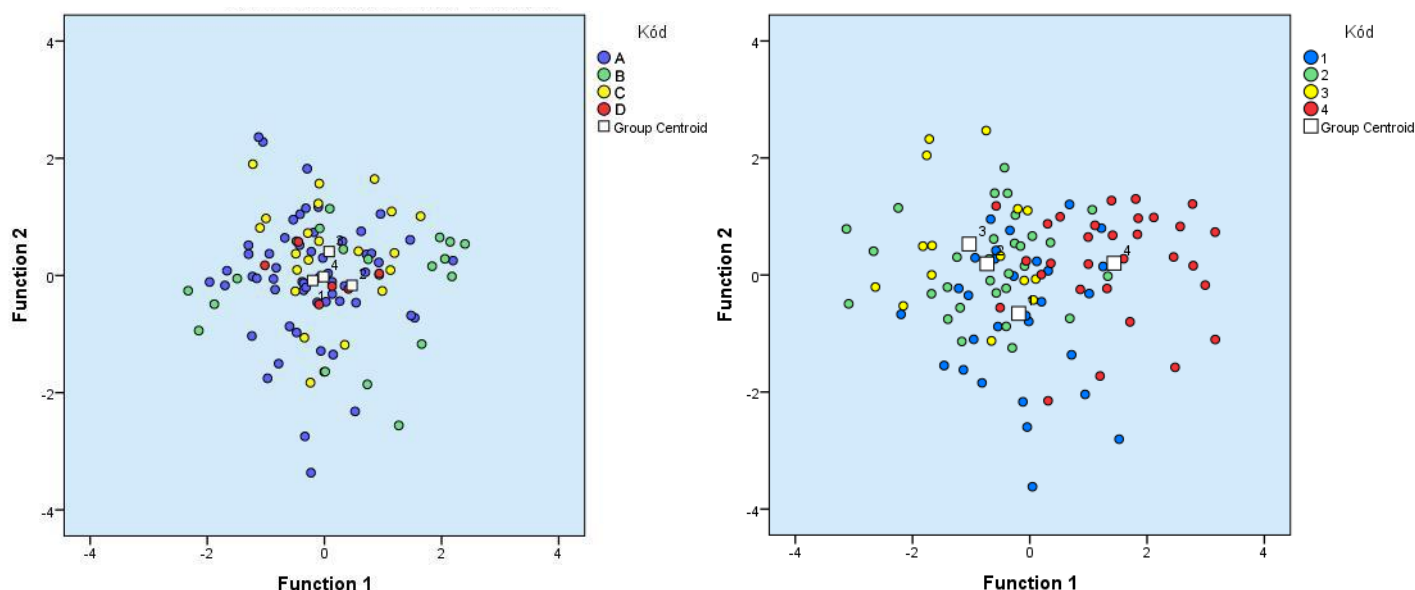
7. táblázat ΔE – értékek értékelése, megoszlása

Csoportok: 1: 2h után bontott, nem fagyasztott; 2: 24h után bontott, nem fagyasztott; 3: kontroll, fagyasztott; 4: zöld, fagyasztott; A: nem fűledt, nem zöld; B: nem fűledt, zöld; C: fűledt, zöld; D: fűledt, nem zöld

ΔE^*	Eltérés a vizsgált minták között	Összes számolt ΔE (n= 245) megoszlása	ΔE – értékek százalékos megoszlása (%)	Csoportok megoszlása átlagos ΔE – értékek alapján
0-0,5	nincs különbség	1	0,4	
0,5-1,5	alig észrevehető	71	29	
1,5-3	észrevehető	91	37,1	2, 3, D
3,0-6,0	jól látható	59	24,1	1, 4, A, B, C
6,0-12	nagy különbség	23	9,4	

Következő lépésben diszkriminancia-analízist végeztünk el az üzemi és az általunk kialakított csoportokon, azokat külön-külön halmazként kezelve (1 – 4 és A – D csoport). Függő változónak a 8 mérési időpont közül három alkalmat választottunk ki (1., 4., 8. mérési hét). A mérési időpontok értékelésére végzett diszkriminancia-analízis eredménye szerint a csoportok nem különülnek el (2. ábra). A klasszifikálás és keresztvalidáció előbbi esetben 60,0% és 56,2%; utóbbiban pedig 56,2% és 52,4%. Mindkét esetben az értékek alacsonyak, nem lehet velük megfelelő megbízhatósággal csoportosítást végrehajtani.

Mivel a kapott értékek gyengének mondhatók, ezért a csoportokat párosítva, további diszkriminancia-analíziseket végeztünk el. A vágás után 2 órát előhűtött, nem fagyasztott (1-es csoport) és a fagyasztott, zöld libamáj csoportokat (4-es csoport) vizsgálva a klasszifikálás eredményesebbnek bizonyult (klasszifikáció 83,3%, a keresztvalidáció 80,0%).



2. ábra Diszkriminancia-analízis, ahol A: nem fűledt, nem zöld; B: nem fűledt, zöld; C: fűledt, zöld; D: fűledt, nem zöld; 1: 2h után bontott, nem fagyasztott; 2: 24h után bontott, nem fagyasztott; 3: kontroll, fagyasztott; 4: zöld, fagyasztott

Következő lépésben kiszámoltuk a 8 csoport színértékeinek átlagait és szórását, melyek kisebbek a Fernandez és mtsai. (2003) által közölt értékeknél, de ez az eltérés a viszonylag nagy szórásnak tulajdonítható. Megvizsgáltuk, hogy az egyes csoportoknak, a mérési időpontoknak, illetve a két faktornak egyszerre van-e szignifikáns hatása az L^* , a^* és b^* értékekre. Kéttényezős variancia-analízist futattunk le a két négyes csoport esetében (1 – D csoport) az L^* , a^* , b^* értékekkel. A modellben a csoportkódot és a mérési időpontokat fix faktorokként kezeltük. A 8. táblázatból leolvasható, hogy a csoportok (A – D csoport) nem voltak szignifikáns kereszthatással a színértékekre, míg az egyes mérési időpontok (1., 4., 8. hét) szignifikánsan befolyásolták az a^* értéket. Azonban a csoportkód és az idő együttesen egyik esetben sem mutat szignifikáns hatást a színtartományokra. Leolvasható, hogy az a^* érték mérési időpontról-időpontra, azaz a tárolás előrehaladtával folyamatosan csökkent, amely a piros-zöld színtengelyen a zöld irányában történő változást mutat. Ezzel objektív, műszeres vizsgálattal is igazoltuk a fagyasztva tárolás alatti zöldülést.

Ugyanezt a metodikát követve elvégeztük a vizsgálatot a másik négyes csoporton (1 – 4 csoport) is, mely esetében a csoportoknak szignifikáns hatásuk volt az a^* értékre. Mindemellett, a mérések időpontjai is szignifikánsan befolyásolták mind a három színtartomány értékét. A két tényező interakciója ez esetben sem volt szignifikáns hatású.

8. táblázat A 8 képzett csoport színparaméterei (átlag±szórás),
a csoport és a tárolási idő hatásának feltüntetésével

A laboratóriumi csoportok színparaméterei (átlag±szórás), a csoport és a tárolási idő hatásának feltüntetésével

csoport	A	B	C	D	P		
szín	átlag±szórás	átlag±szórás	átlag±szórás	átlag±szórás	csoport	idő	kód x idő
L*	61,83±5,70	62,25±5,01	64,53±4,27	62,26±1,93	N.S.	N.S.	N.S.
a*	6,81±2,43	7,76±2,27	6,19±2,66	6,84±2,21	N.S.	**	N.S.
b*	19,56±2,93	18,37±4,25	19,56±1,92	19,15±2,03	N.S.	N.S.	N.S.

**P ≤ 0.01; N.S.:P>0,05

Az üzemi csoportok színparaméterei (átlag±szórás), a csoport és a tárolási idő hatásának feltüntetésével

csoport	1	2	3	4	P		
szín	átlag±szórás	átlag±szórás	átlag±szórás	átlag±szórás	csoport	idő	kód x idő
L*	59,75±5,97	62,91±3,41	63,66±5,60	64,18±4,80	N.S.	**	N.S.
a*	6,93±2,26	6,09±2,31	6,01±2,49	8,04±2,39	***	**	N.S.
b*	18,22±2,86	20,73±2,47	21,94±2,46	17,65±2,48	N.S.	***	N.S.

***P≤0,001; **P ≤ 0.01; N.S: P>0,05

Mivel a két tényező együttesen nem gyakorolt befolyásoló hatást a színértékekre, elvégeztük az egyes színparaméterekre (L*, a*, b*) a páronkénti összehasonlítást, melynek értékeit a 9. táblázatban tüntettük fel. Szignifikáns eltéréseket elsősorban az üzemi csoportok (1: 2h után bontott, nem fagyasztott; 2: 24h után bontott, nem fagyasztott; 3: kontroll, fagyasztott; 4: zöld, fagyasztott) esetében tapasztaltunk. Az L* értékek esetében szoros összefüggést ($P < 0.01$) kaptunk az 1-4 csoportok esetében, az a* értékeknél az 1-4, 2-4, 3-4 csoportoknál, illetve a b* értékeknél az 1-2, 1-3, 2-4, 3-4 csoportoknál. Ebből arra lehet következtetni, hogy az egyes csoportok között statisztikailag is alátámasztható színbeli eltérés van.

9. táblázat A 8 képzett csoport között színparaméterekben található páronkénti eltérések

	A			B			C			D			1			2			3			4		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*
A							*																	
B							*																	
C	*				*																			
D																								
1															*		***	*	***	***	***	***	***	***
2													*		***							***	***	***
3													*		***							***	***	***
4													***	**			***	***		***	***			

***P≤0,001; **P ≤ 0.01; *P ≤ 0.05

A továbbiakban megvizsgáltuk, hogy az egyes csoportok elkülönülnek-e egymástól az L^* , a^* és b^* értékek függvényében, melyhez egytényezős variancia-analízist végeztünk el. Analízisünk során az első és második négyes csoportot továbbra is külön halmazokként kezeltük. Míg az általunk kialakított 4 csoport (A – D) esetében nem találtunk szignifikáns különbséget egyik színtengely értékei esetében sem a csoportok között, addig az üzemben képzett négyes csoportnál (1 – 4) mind a három színértéknél szignifikáns különbségeket kaptunk (10. táblázat).

10. táblázat A három színparaméter (L^* , a^* , b^*) 1-4. csoportbeli eltérései a három kiválasztott mérési időpont (1., 4., 8. hét) alapján

	1	2	3	4
n	30	30	15	30
L^*	59,75 ^a	62,91 ^{ab}	63,66 ^b	64,18 ^b
a^*	6,93 ^{ab}	6,09 ^a	6,01 ^a	8,04 ^b
b^*	18,22 ^a	20,73 ^b	21,94 ^b	17,65 ^a

a,b: az eltérő betűk szignifikáns különbséget jeleznek $P \leq 0.05$ szinten

Ezután, hogy teljes képet kapjunk adatainkról, további egytényezős variancia-analízist végeztünk (Tukey-test), mellyel az egyes csoportokat vizsgáltuk a mérési időpontok (1., 4., 8. hét) alapján. Mivel a kettő, négyes csoportban (1 – 4, A – D csoport) ugyanazok a minták szerepelnek – L^* , a^* és b^* értékük is ugyanazok – ezért elég elvégezni a variancia-analízist az egyik négyes csoporton. Az adatok alakulásából kivehető, fokozatos csökkenés figyelhető meg az a^* érték (11. táblázat) esetében, tehát a májak színe a zöld-piros tengelyen a zöld irány felé tolódott el épp úgy, ahogy ez az 1. ábrán is látszik. Ez olyan mértékű csökkenést jelent, hogy a negyedik és nyolcadik mérési időpont szignifikánsan eltérnek az első mérési időponttól. Ugyanez a folyamat játszódik le a b^* értékek időbeli változását figyelve. Ebben az esetben is csökkennek az értékek a mérési időszak előrehaladtával, tehát a kék-sárga tengelyen az értékek a kék szín irányába tolódnak el, ám a csökkenés nem volt olyan mértékű, hogy az időpontok között szignifikáns különbséget tudjon kimutatni a Tukey-teszt.

11. táblázat Az a^* értékek csökkenése, zöld színeltolódás a tárolás alatt (1., 4., 8. hét)

Mérési hetek:	1.	4.	8.
n	35	35	35
a^*	8,29 ^b	6,49 ^a	5,85 ^a

a,b: az eltérő betűk szignifikáns különbséget jeleznek $P \leq 0.05$ szinten

A teljes adatbázison elvégzett vizsgálat után elemeztük az egyes csoportokon belüli megoszlást is. Szinte minden esetben csökkenő értékeket tapasztaltunk a vizsgálatok során, tehát a májak színe általánosságban a zöldes-kékes irányba tolódott el. Szignifikáns különbséget kaptunk az a* érték esetében az A és 4-es mintacsoporton belül, ahol a 2. és 3. mérési időpontok eltérnek az 1. mérési időponttól; valamint a C és 2-es csoportokon belül, ahol is a 3. mérési időpont szignifikánsan eltért az 1. mérési időponttól.

Végezetül, – az *Anyag és módszer* fejezetben leírtak szerint – a 12. táblázatban foglaltuk össze, az üzemben kialakított csoportok (1 – 4) újracsoportosítását követően, az általunk végzett vizuális zöldsín meghatározásának eredményeit. Jól látható, hogy a vizsgált máj-mintacsoport (n=35) kontroll mintáin, valamint a vágás után 2 órán belül bontott májakon nem volt megfigyelhető zöldes elszíneződés, a random módon kiválogatott, vágás után 24 óra múlva bontott májak 60%-a, míg az üzemben is zöldnek minősített májak 80%-a mutatott vizuálisan felismerhető zöldes elszíneződést.

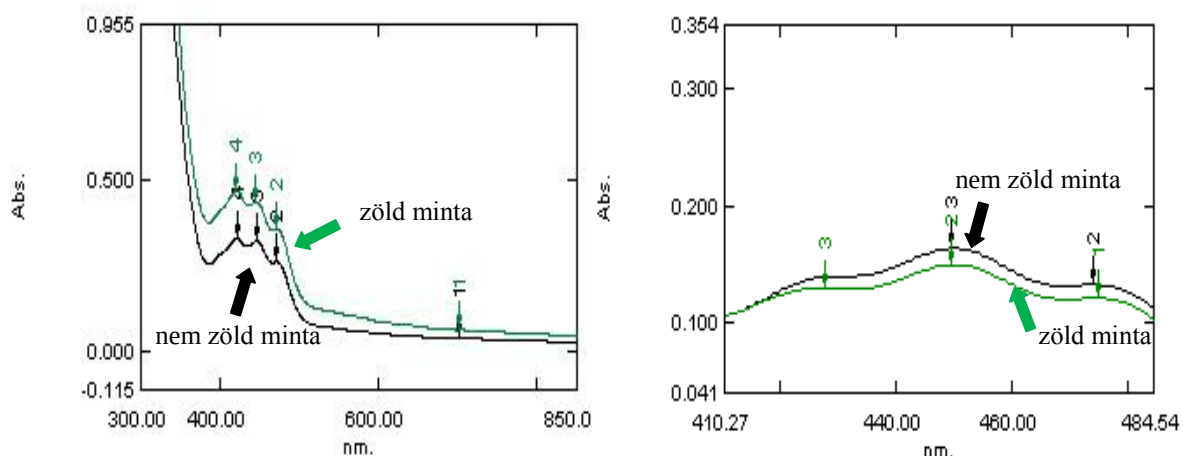
12. táblázat Az üzemi mintacsoport (1 – 4) vizuális színvizsgálatának eredményei

Csoportok megnevezés	Zöld szín előfordulás	
1: Vágás után 2 h után bontott	gyakoriság %	0
	n	10
2: Vágás után 24 h után bontott	gyakoriság %	60
	n	10
3: Kontroll (nem zöld)	gyakoriság %	0
	n	5
4: Fagyasztott, zöld	gyakoriság %	80
	n	10

6.2. A máj zöld pigmentanyagának azonosítására irányuló vizsgálat eredményei és értékelésük

6.2.1. A zsíroldékony színanyagok keresése

Fontos megemlíteni, hogy az ismeretlen zöld színanyag természetéről a vizsgálataink kezdetén nem állt rendelkezésre releváns információ, ezért a vizsgálati metodikát is ebben a fejezetben mutatom be. Első lépésként acetont, toluolt és n-hexán extrakciókkal próbáltuk meg a pigment oldását, melyek során a zöld és nem zöld minták egyáltalán nem tértek el. Példaként a hexános extrakció teljes és az acetonos kivonás kiemelt szakaszon ábrázolt spektrumait mutatom be a 3. ábrán.



3. ábra A hexános és acetonos kivonás során kapott spektrumok zöld és nem zöld májmintákból (epefestékekre jellemző csúcsok)

Jól látható, hogy a mintától (zöld és nem zöld) függetlenül azonos hullámhosszon kaptunk színanyagokat (abszorpciós maximumokat), melyeket irodalmi források felhasználásával azonosítottunk, tekintettel arra, hogy mind a zöld, mind a nem zöld mintákban azonos módon jelen voltak. Ez a tartomány egyébiránt a növényi festékanyagok jellegzetes képviselőire utal. A hexános oldatban 470 nm: bixin, míg 445 nm alfa-karotin jelenlétére utal, míg az acetonos közegben 450 és 475 nm-en kapszantin, 427 nm-en pedig auroxantin csúcsokat tapasztaltunk (Rodriguez-Amaya, 2001). Ezen alkotók esetében az látható, hogy a mintáktól független megjelenésük, legvalószínűbb, hogy ezek növényi, egészen pontosan takarmányeredetű komponensek. Feltételeztük ennek alapján, hogy a keresett zöld komponens nem zsíroléköny. Ezt az is alátámasztotta, hogy a zöld színre jellemző hullámhossz tartományban ezen oldószerekkel nem kaptunk értékelhető csúcsokat, hiszen a fenti tartomány a látható színek spektrumán nem a zöld (ca. 500-550 nm) tartományba esnek. Fontos megjegyezni, hogy poláris oldószerekkel nem dolgoztunk, azok ugyanis fehérjedenaturáló hatásúak (metanol, etanol), mi pedig (irodalom és személyes tapasztalatcsere alapján) feltételeztük egyfajta hemoglobin-származék jelenlétét (Nicol és mtsai 1970).

6.2.2. Desztillált vizes kioldás

Zöld, vérfoltos és egyáltalán nem zöld területekről kb. 1 g mennyiségű kaparék mintákat vettünk, eltérő májabból. A mintákat desztillált vízben homogenizáltuk. A homogenizálás során (30000 rpm, 1 perc, tengelyes homogenizáló) a minta zavaros lett a szuszpendált lipidektől (melyek a hideg és szobahőmérsékletű oldószerben is dermedt partikulomokként vannak jelen), ezt +4 °C-os 15000 g/10 perces centrifugálással kezeltük. Irodalmi adatok alapján a zöld szín kialakulásáért

szulfhemoglobin lehet felelős. Fontos megjegyezni, hogy a szulfhemoglobin kizárólag anaerob körülmények között keletkezik, oxigén jelenlétében gyorsan bomlik. Érdekes módon ez a bomlás egyszerű oxidáció, ami azonban a színt jelentősen módosítja. Az oxidált szulfhemoglobin nem zöldesvörös, hanem piros árnyalatú, emiatt állati termékekben nem zavaró. Karakterisztikus abszorpciós maximuma 648 nm-en van.

Az anyagi minőségre irányuló vizsgálatnál a vákuumcsomagolást közvetlenül a mintavétel előtt nyitottuk fel, majd a kaparékot rögtön az oldószerbe helyeztük. A vizes oldatokat légmentesített vízből (kiforralás) készítettük, míg a centrifugálást kupakkal lezárt, teljesen teli csövekben (Falcon típusú) végeztük, hűtve.

Az 578 nm-nél rögzített csúcs azonosítása során oxihemoglobint találtunk, ami a gyakorlatban vérmaradványra utal. Ezt véres máj-területen kifejezetten nagy koncentrációban sikerült detektálni. Fontos megjegyezni, hogy ezt a csúcsot több, ám nem minden mintában kaptuk vissza, azaz a nem vérfoltos májban, de még a zöld májban is volt kisebb mennyiségű vér. Ez az eredmény arra utal, hogy a májak kivéreztetettsége nem teljes. (Véres foltban ezen túlmenően 564 nm-en kaptunk csúcsot, mely karboxihemoglobinnak felel meg.)

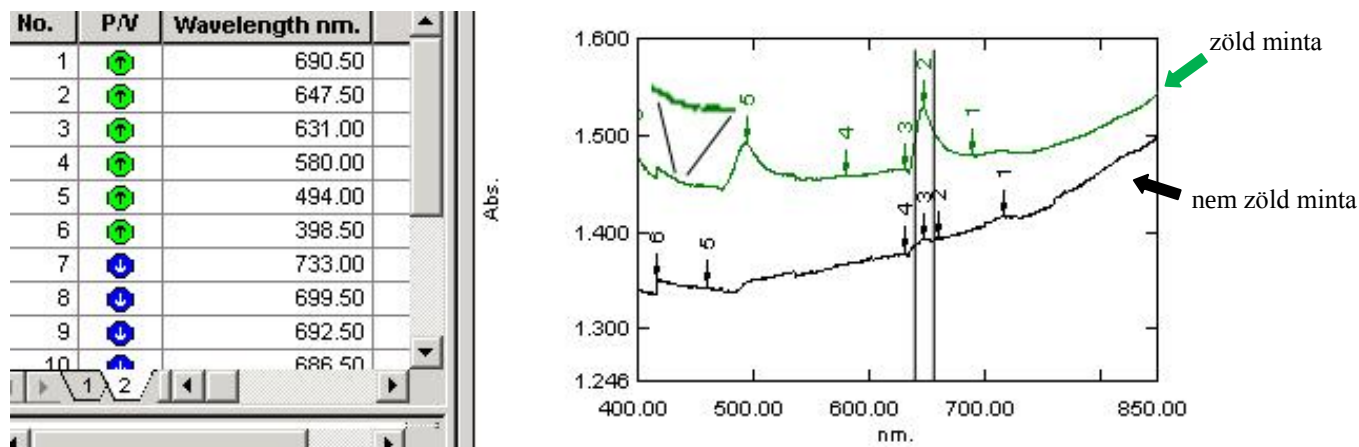
6.2.3. Homogenizálás, majd centrifugálás eltérő pH értékű foszfát pufferolt só (PBS) oldatokban

Alapvető elképzelésünknek megfelelően, mely szerint a zöld elszíneződést legvalószínűbb, hogy szulfhemoglobin okozza, fehérje szolubilizációs kisózással kezdtük el a színanyag azonosítását. Egyszerű közelítést alkalmaztunk: olyan csúcsot kerestünk, mely csak a zöld mintában van jelen, akár kis mennyiségben is. A színanyag ugyanis akár nagyon aktívan festő-képességű is lehet. (Ez a feltételezés, megítélésünk szerint, részben téves volt. Kis mértékben a legtöbb minta tartalmazott szulfhemoglobint. A zöld máj nemcsak a zöld foltokban, hanem mindenütt, míg a szinte viaszfehér máj alig vagy nem-kimutatható mértékben tartalmazza azt.)

Vákuumszűrési módszerrel sok esetben tapasztaltuk, hogy a jelentős mennyiségű levegő „átszívása a mintán” gyakorlatilag értelmezhetetlen eredményekhez vezetett. Alig tapasztaltunk érdemi eltérést a zöld - nem zöld összevetésben, sem egy máj, sem eltérő (zöld és nem zöld) májak mintázása során. Irodalmi adatok (Nicol és mtsai 1970), valamint az üzem dolgozóinak tapasztalata alapján, a szulfhemoglobin enyhe oxidációra is igen érzékeny (a felolvasztott máj elveszíti a zöld színt), a rá jellemző csúcs a spektrumról (és a felolvasztott, kicsomagolt májról) „eltűnik”.

Fontos kiegészítés, hogy a májhomogenizátum (2g/25 ml) sűrű, lipidózus, opálos szuszpenzió, melynek szűrése csak szűrőnuccson, 12 mikrométeres pórusméretű papíron, vékony rétegben, nagy felületen, 210 mbar vákuum alkalmazásával volt lehetséges. Ilyen körülmények között a szuszpenzió oxidációja elkerülhetetlen.

Egy jellemzően diffúz, ám érdemi eredményt mutató spektrum párt 4. ábrán mutatunk be. Külön ábrán nem szemléltetjük, de fontos eredményként ismertetésre érdemes, hogy a szulfhemoglobinnak nemcsak az oxidált, hanem a natív formáját is kimutattuk, 618 nm abszorpciós maximummal. A 4. ábra a jellegzetes analitikai nehézséget is tükrözi, mégpedig azt, hogy a fotometriás mérések során diffúz oldatokkal dolgoztunk. A rendelkezésre álló közép-centrifugálási lehetőség (max. 30000 g) nem tette lehetővé tiszta máj-felülészó szeparálást. A spektrumokon ez jellegzetes „zajjal” tükröződött vissza, melyet kiemelten jelöltem a 4. ábra egy szakaszán. Valójában ez a jelentős abszorpciós csúcsok azonosítását nem tette lehetetlenné, de kis csúcsokkal a teljes spektrumon levő zaj gyakorlatilag fedést okozhat. Ezesetben kaptunk első utalást arra, hogy oxidált szulfhemoglobin nagyobb mennyiségben lehet a mintában (647,5 nm), melynek a jele kifejezett volt a zöld mintában, de kis csúcsot adva a nem zöld területen is megvolt a csúcs (2-es jelű a zöld spektrumon, kiemelve). Ez az eredmény megerősítette azt a feltételezést, hogy egyazon zöld máj eltérő területei egyaránt tartalmaznak zöld színanyagot.



4. ábra Gyors vákuumszűréssel tisztított minták spektruma, oxidált szulfhemoglobin (2 a felső, zöld májon felvett spektrumon) csúccsal (A kiemelés a jelentős zajt szemlélteti)

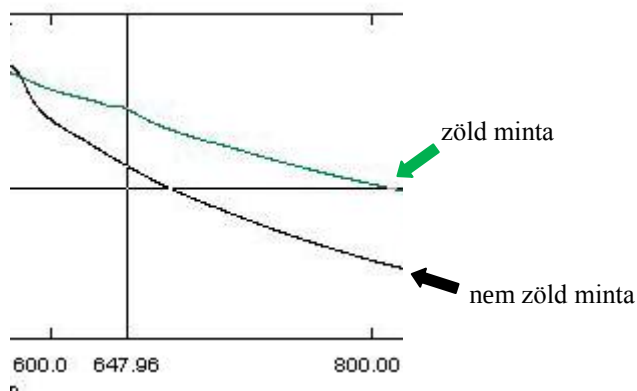
Nagyon sok ismételtesben végeztük el azt a kevésbé célravezető közelítést, ahol egy ugyanazon máj zöld és nem zöld területeit vetettük össze. Ezen esetekben nem kaptunk semmiféle minőségi, csak mennyiségi eltérést. Vizuális tapasztalatunk kiemelésre érdemes: a zöld árnyalatú májat fagyott állapotban megmintázva, másnapra az mélységében újra zöldül, azaz ebben az esetben nem felszíni zöldülés áll fenn. A fenti spektrum sem felszíni, hanem mélyebb rétegből fagyottan vett mintából

származik. További megfigyelésünk, hogy a zöld és nem zöld máj egészében más árnyaltot mutat, előbbi barnás-zöldes, utóbbi viaszra emlékeztetően szinte fehér, törtfehér.

6.2.4. A színanyag reakciói, szulfhemoglobin igazolása

Irodalmi adatokra alapozva azt próbáltuk megállapítani, hogy a mintákban kimutatott szulfhemoglobin valóban érzékeny-e oxidációra. Erre korábban már kaptunk két utalást: a feldolgozóüzemben azt tapasztalták, hogy a vákuumsomagolás felnyitása és a szobahőmérsékletre való felolvasztás – legalábbis a legtöbb esetben – eltűnteti a zöld színeződést. A releváns irodalom (Nicol és mtsai, 1970) szerint is oxidációra érzékeny a szulfhemoglobin. Ezt mi a nagy szűrési felületen való sikertelen detekciók sorozatakor tapasztaltuk. A natív szulfhemoglobint 618 nm-es csúccsal ritkán, az oxidált formát szinte minden esetben megtaláltuk, az azonban nem a zöld tartományban ad jelet (647 nm), ennél fogva „nem zavaró a jelenléte”.

Megpróbáltuk ugyanakkor az oxidált szulfhemoglobin redukcióját, tömény NaOH (5 M) oldattal (20% a tisztított felülúszóban, 1 h reakcióidő). Az adott, kis oxidált szulfhemoglobin mennyiséget mutató zöld máj kezelés előtti és utáni spektrumait az 5. ábra mutatja, ahol jól látható a jelölt – sajnos az adott esetben kicsi oxidált szulfhemoglobin – csúcs redukciót követő eliminációja.



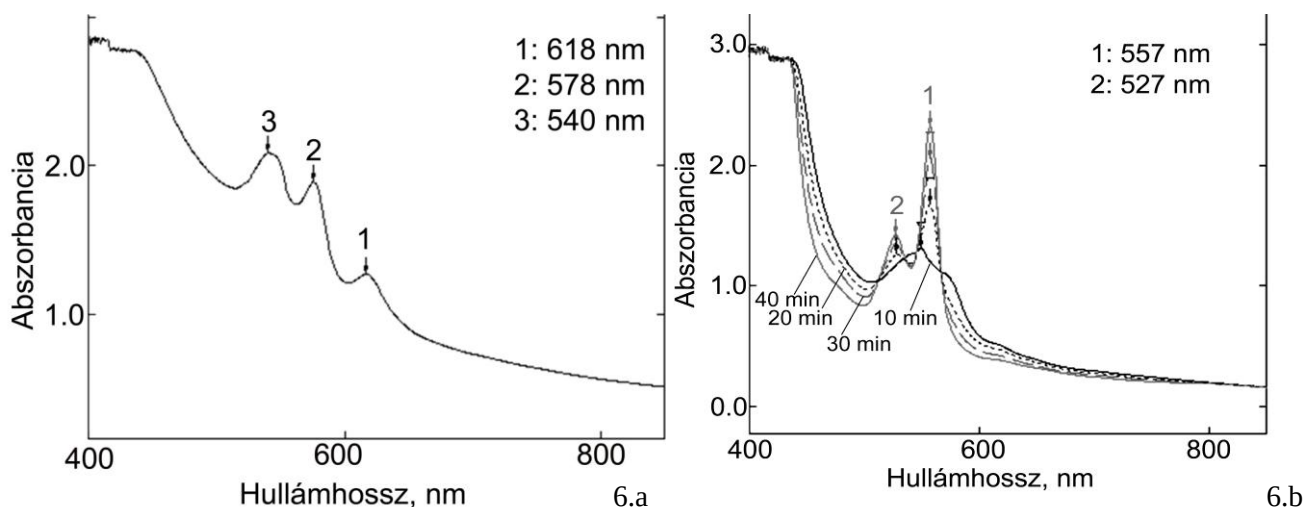
5. ábra A NaOH-os kezelés redukciós hatása az oxidált szulfhemoglobinra

Kiegészítésként fontos megjegyezni, hogy a hemoglobin spontán tárolás alatti bomlása eredményezhet methemoglobint, melynek jellemzően hasonló abszorpciós maximumai vannak a szulfhemoglobinhoz, de egyik markáns csúcsa 630 nm-nél van. Ezt is szinte minden mintában kimutattuk (6. ábra). A bemutatott ábrán a 632,5 nm-es csúcs azonosítása megítélésünk szerint a nem teljesen tiszta oldatoknál pontatlan.

6.2.5. A máj felolvasztási exszudátumának fotometriás vizsgálati eredményei és értékelésük

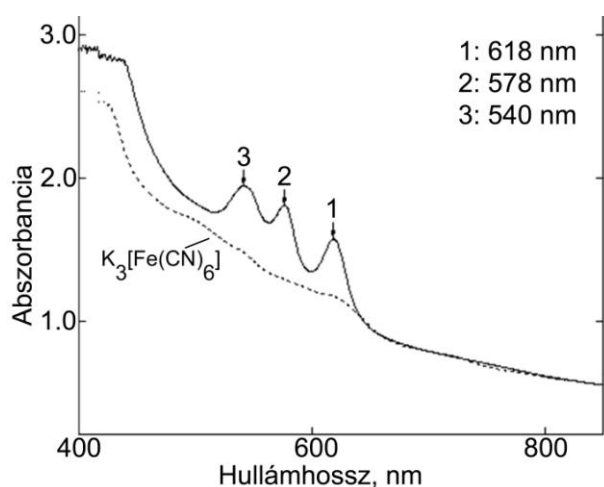
A fenti munka során máj homogenizátumokat vizsgáltunk, eltérő tisztítási lépéseket követően fotometriás módszerrel. Szakirodalom a máj zöldülése kapcsán nem állt rendelkezésre, hús esetében viszont igen, ezért a csepegő húslé vizsgálatánál leírt eljárás alkalmazása tűnt célravezetőnek (Nicol és mtsai, 1970). A felolvasztási veszteségként jelentkező exszudátumot második lépésben, kifejezetten kiegészítő jelleggel elemeztük. A máj-homogenizátumok vizsgálatát követően a színmérésre fagyaszttva tárolt mintákat további analízis céljából szobahőmérsékletre olvasztottuk fel, ám a vákuumsomagolást nem nyitottuk fel, megőrizve az anaerob körülményt. A felengedés során jelentősebb mennyiségű exszudátum került szabad folyadékként a fóliacsomagolásba. Ezt a folyadékot lehetőleg anaerob módon felfogtuk Eppendorf csövekbe, Nicol és mtsai (1970) módszere szerint. A gyűjtött anyagot 12000 g / 10 perc beállításon hűtve centrifugáltuk, a lezárt Eppendorf csövekben. A felülúszó dermedt zsírréteget eltávolítottuk, majd az exszudátumot natív formában fotometriásan vizsgáltuk, 850 és 400 nm közötti tartományon, víz, mint vak mellett.

A kezeletlen exszudátum fotometriás mérése (spektrumfelvétel) során jól definiálható abszorpciós maximumokat kaptunk 618, 578 és 540 nm hullámhossz értékeken (6.a. ábra). Az 578 nm érték az oxihemoglobinra jellemző (Drabkin, 1946), míg Zijlstra és mtsai (1991) 540 nm-en azonosítottak egy hemoglobin-O₂ derivátumot. Lemberg (1949) szerint a 618 nm-es csúcs szulfhemoglobinnak felel meg. Ezt kiegészítendő, Nicol és mtsai (1970) ferrocholeglobin és ferrocholemioglobin csúcsokat írtak le ezen hullámhossz tartományban, egészen pontosan 628 és 635 nm értékekkel, míg marhahús csepegési exszudátumában 617 nm-en szulfmioglobint azonosítottak.

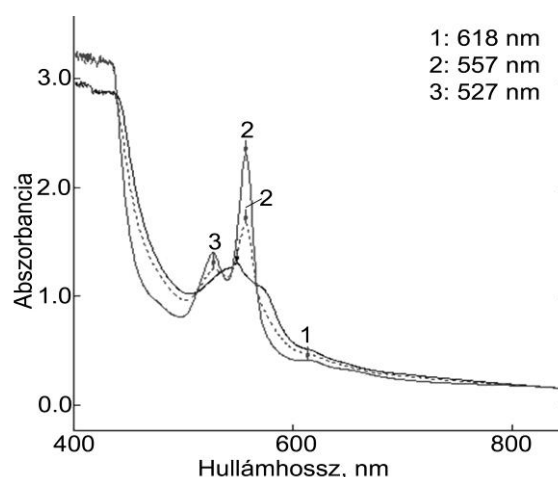


6.a és 6.b ábra A natív máj exszudátumban talált hemoglobin származékok spektruma (a), valamint a lúgos denaturációt követően kialakuló termék spektruma (b)

Annak érdekében, hogy a choleglobinok előfordulásának lehetőségét kizárjuk, lúgos kezelést alkalmaztunk (5 M NaOH, 100 mikrol 1,5 mL exszudátumhoz). A lúg indukálta reakció időfüggését *6.b ábra* mutatja. Jól látható módon, a 618 nm-en detektált csúcs már 10 perc után eltűnt, és 557 nm-es hullámhosszal megjelent egy reakciótermék melynek mennyisége a 4 tízperces időszak alatt folyamatosan nőtt (*6.b ábra*). Rao és mtsai (2005) szerint a szulfhemoglobinból ilyen kezelés során 557 nm-es abszorpciós maximummal protohemochrom képződik; saját eredményeink szintén 557 nm-en adtak egyre emelkedő csúcsot (*6.a ábra*). Marhahús exszudátumában Nicol és mtsai (1970) hasonló, szulfmiogloblin-protomiochrom reakciót írtak le lúgos kezelés eredményeként. A szulfhemoglobin anyagi minőségét támasztják alá a további reakciók is. A kálium-hexacianoferrát (0,1%, 100 mikrol 1,5 mL exszudátumhoz) okozta oxidáció eltüntette a 618-es szulfhemoglobin csúcsot (*7.a ábra*). Amennyiben a kálium-hexacianoferrát oldatot a NaOH-dal és Na-ditionittal (2%, 80 mikrol) redukált exszudátumhoz adtuk, enyhe reverz oxidációs folyamatot tapasztaltunk, a 618-nm-es csúcs kis mértékben, de ismét megjelent (*7.b ábra*). Mindezek alapján legnagyobb valószínűséggel szulfhemoglobin lehet az exszudátumban azonosított zöld színanyag.



7.a



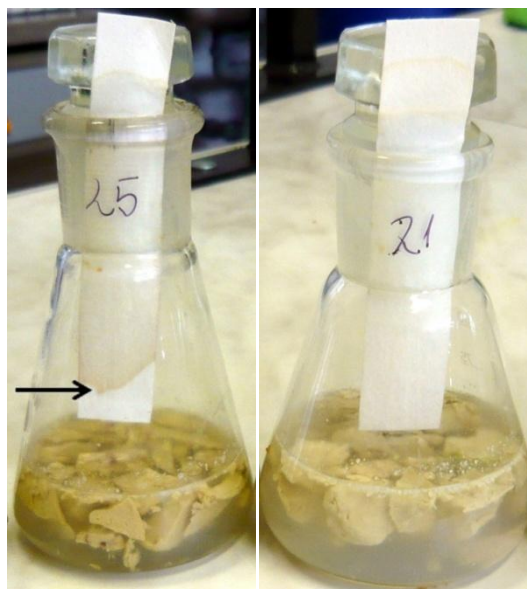
7.b

7a és 7b ábra A szulfhemoglobin kálium-hexacianoferrát okozta oxidációja (a), illetve a lúggal redukált származék újbóli oxidáció során történő megjelenése (b)

6.3. A fülledés, illetve annak a zöldülésben betöltött szerepe

A szulfhemoglobin kialakulásához kénhidrogén és hemoglobin szükséges, valamint alacsony oxigén tenzió (Nicol és mtsai, 1970). A kénhidrogén eredete kettős lehet: vagy kénhidrogént termelő baktériumoktól származhat, vagy egyszerűen diffúzióval, a béltraktusból, a teljestest bontás nélküli előhűtése során.

A kénhidrogén jelenlétét igazoltuk a zöld májakban, ún. fülledési próbával, de nem tapasztaltunk erős fülledést (8. ábra). A módszerről meg kell említeni, hogy mennyiségi meghatározásra nem alkalmas. Eredményeink szerint nem zöld májon egy esetben sem, a zöldek legtöbbször pedig tapasztalható volt a fülledés az első, 25 mintából álló mintasorozatban.



8. ábra Pozitív és negatív fülledési teszt zöld és nem zöld májon
(a nyíl az ólomacetát és a savval felszabadított kénhidrogén reakciójából
származó elszíneződést, ólomszulfidot jelez)

A második, 35 mintából álló csoportban célzottan meghatároztuk a fülledést, melynek eredményét a 13. táblázat tartalmazza.

13. táblázat A 35 (4 csoportba sorolt) mintán végzett fülledésvizsgálat
(előfordulási gyakoriság az adott csoportban, %), illetve a hem pigment koncentráció (mg/g máj)

csoportok		pigment koncentráció	fülledés
kontroll	átlag	0.89	0%
	db	5	5
	szórás	0.16	
vágás után 24h	átlag	0.89	60%
	db	10	10
	szórás	0.17	
vágás után 2h	átlag	0.74	0%
	db	10	10
	szórás	0.10	
fagyott zöld	átlag	0.83	30%
	db	10	10
	szórás	0.11	

A 13. táblázatban összefoglalt eredményeink szerint a kontroll májak nem fülledtek, míg a legmarkánsabb előfordulási gyakoriság (60%) a 24 órás testhűtést követően bontott, de még nem fagyasztott mintákon volt tapasztalható. Érdekes módon a fagyasztásos tárolás során zöld színt mutató májak 30%-a volt fülledtnek minősíthető, míg a vágást követően 2 órával, gyakorlatilag frissen bontott májakban nem igazoltunk fülledést. Bár ez az eredmény nagyon kedvező, hiszen azt igazolja, hogy a hűtési eljárások közül a 24 óráig tartó testhűtés vezet fülledéshez. A gyakorlatban ez azonban nehezen értelmezhető, mivel üzemi körülmények között egyébként sem alkalmazzák ezt az (ún. „meleg bontásos”) eljárást, mert ez rossz konzisztenciájú terméket eredményezne.

6.4. Mikrobiológiai vizsgálatok eredményei és értékelésük

A mikrobiológiai vizsgálatok során nem kaptunk a kimutathatósági határérték feletti értékeket a β -glükurondiáz pozitív *E. coli*, az Enterobaktériumok, a *Staphylococcusok*, a *Clostridium perfringens*, és a *Pseudomonasok* esetében sem, ami a baromfifeldolgozó üzem kimondottan nagy technológiai tisztaságára utal. Tehát a baktériumtörzsek telepszámlálási eredményei alapján a zöldülés mikrobiológiai eredetét kizártuk.

Fontos megjegyezni, hogy a mikrobiológiai vizsgálatot nagyobb máj-darabokból elvégzett, úgynevezett stomacher homogenizálás előzte meg, mely művelet során is jelentősebb mennyiségű vér vált láthatóvá. Ez az információ szintén megerősíti hipotézisünket.

6.5. A vértartalom vizsgálatának eredményei és értékelésük

Tekintettel arra, hogy a vértartalom és a kénhidrogén együttes jelenléte szulfhemoglobin képződéshez vezethet, ami ugyancsak okozhat zöld elszíneződést, ezért a továbbiakban a vértartalomra irányuló vizsgálatokat végeztünk. A májminták kivéreztetettségének meghatározását savas közegben végzett acetonos extrakcióval mértük, össz-hem-pigment meghatározás módszerrel. Fotometriás kalibrációt alkalmaztunk a kvantitatív mérés érdekében, hemin-HCl alkalmazásával.

Az eredményeket a fülledés-vizsgálat eredményekkel együtt a 13. táblázatban foglaltam össze. A szöveti vér-mennyiségek nem voltak szignifikánsan eltérők a 35 mintát alkotó 4 csoportban, de fontos megerősítést adtak a fenti eredményeknek. A nagy szórást az eredményezi, hogy a zöld szín nem terjed ki az egész máj felületére, hanem csak foltokban, kisebb területen van jelen. A vizsgálat alatti megfigyelésünk és a hemipigment koncentrációra irányuló mérési eredményünk szerint, az üzemben alkalmazott vágási technológia kiegyenlítetten véres májakat eredményez. Amennyiben ehhez fülledés is társul, nagyobb a valószínűsége a zöldülés kialakulásának.

Ezt a felvetést a csoportokon ún. logisztikus regresszió analízissel teszteltük. Az elemzés arra irányult, hogy a zöld szín kialakulása melyik faktorhoz (vér-maradvány vagy fülledés megléte) köthető, és milyen mértékben.

Függetlenül attól, hogy a fülledés 0-1 bináris (0-nem fülledt, 1-fülledt) adatain túl a pigmentációt 0-1 formában (0 a kontroll átlaga alatti, 1 a kontroll átlaga feletti a 13. táblázat szerint), vagy pedig az abszolút értékeket figyelembe véve adtuk meg, a fülledés hatása nem (20% hibavalószínűség mellett), míg a vértartalomé szignifikánsnak bizonyult (0,7% hibavalószínűség). Utóbbi tulajdonság sajnos nagyon kiegyenlített és magas a májakban. A fülledés azonban, meglepő módon nem eredményezett szignifikáns hatást.

6.6. A vérvizsgálat eredményei és értékelésük

Az eredményeket Locsmándi (2007) és Thrall (2004) referencia eredményeihez viszonyítottuk, illetve elvégeztük a csoportok közötti független, kétmintás t-próbára alapozott összevetést. Locsmándi (2007) adatai azért kifejezetten értékesek számunkra, mert 18-22 napig tömött libák releváns eredményei, azaz az elérhető, leginkább releváns referencia. Az eredményeket röviden és tárgyilagosan mutatom be az alábbiakban, tekintettel arra, hogy a dolgozat központi kérdésére vonatkozóan ezek kiegészítő jellegűek.

14. táblázat A zöld és színhiba nélküli májakat „adó” ludak vérszérum paraméterei, vágáskor

		Zöld minta	Nem zöld minta		Referencia tartomány
		átlag ± szórás	átlag ± szórás	szig.	
Nátrium	mmol/L	145.5 ± 11.36	145.79 ± 7.44		130-160 mmol/L*
Kálium	mmol/L	7.80 ± 2.66	7.28 ± 2.28		3.5-7.6 mmol/L*
Klorid	mmol/L	88.0 ± 10.16	90.7 ± 3.71		100-120 mmol/L*
Kalcium	mmol/L	3.45 ± 0.19	3.94 ± 1.84		2.15-2.75 mmol/L*
Foszfor	mmol/L	3.21 ± 1.10	2.86 ± 0.48		1.6-2.3 mmol/L*
Magnézium	mmol/L	1.69 ± 0.64	1.59 ± 0.49		-
Karbamid	mmol/L	0.58 ± 0.83	0.51 ± 0.34		-
Kreatinin	mikromol/L	13.5 ± 14.29	12.32 ± 9.52		10-100 mikromol/L*
Húgysav	mikromol/L	3.72 ± 0.70	3.61 ± 0.68		<850 mikromol*
Összfehérje	g/L	56.7 ± 3.58	56 ± 6.31		54-61.7 g/L**
Albumin	g/L	19.1 ± 2.17	19 ± 2.52		18.5-20 g/L**
Összkoleszterin	mmol/L	6.95 ± 1.53	6.03 ± 1.09		8.9-9.3 mmol/L**
Triglicerid	mmol/L	3.45 ± 0.73	2.80 ± 0.69	0.022	6.1-6.2 mmol/L**
Bilirubin, össz	mikromol/L	3.57 ± 2.79	2.08 ± 1.00	0.043	15.9-19.4 **
GPT	IU/L	145.3 ± 273.8	44.6 ± 21.56		47-62.5 IU/L**
gammaGT	IU/L	4.40 ± 3.51	4.20 ± 3.42		4.75-5.17 IU/L**
Alkalikus foszfatáz	IU/L	434.3 ± 170.6	308.4 ± 84.4	0.011	181-185 IU/L**
Lipáz	IU/L	25.6 ± 10.04	25.0 ± 5.87		-
Réz	mikromol/L	8.40 ± 1.44	8.48 ± 2.40		-

**Locsmándi, 2007

*Thrall, 2004

A vérparaméterek részletes elemzése az alábbiakban található:

Ionok

Nátrium: a normál élettani tartományban voltak mindkét csoport eredményei, melyek megfelelő ivóvíz-ellátásra, ionegyensúlyra, és megfelelő veseműködésre utaltak. Ezzel szemben a **kálium** a referencia adatok felső tartományában fluktuált, melyért a vérvétel és feldolgozás között eltelt nagyobb időintervallum okolható. A vágással egybekötött vérvétel és a szérum elválasztás között ugyanis 12 óránál hosszabb idő telt el. A két csoport szérum kálium koncentrációja azonban nem tért el egymástól. **Rézre** vonatkozóan nem találtunk irodalmi adatokat, csak emlősök esetében (Kaplan és mtsai, 2003), 3-40 mikromol/L tartományt, mely szerint nem áll fenn réz toxikózis a tömött madarakban. Shahzad és mtsai (2012) brojlerekre vonatkozóan 2g/takarmány kg CuSO₄ etetés mellett igazoltak patológiás máj elfajulást brojlerekben, de ez kifejezetten toxikológiai kísérlet volt. Mindenesetre a csoportok között sem igazoltunk eltérést, mely szerint nem áll fenn réz etetés a takarmányozás során, illetve ha mégis, kis koncentrációban, akkor ez nem okoz zöld színhibát a májakon. A **kalcium**, a **szervetlen foszfor** és a **magnézium** esetében a referencia tartományhoz közel álló értékeket tapasztaltunk, a csoportok között pedig semmiféle eltérés nem állt fenn.

Nitrogéntartalmú anyagok

Húgysav: A madarakban a takarmányfehérjék húgysav bomlásterméket adnak, ennek megfelelően magasabb fehérjebevitel a vérben magasabb húgysav koncentrációval jár. Tömött liba referencia adataink (390-450 mmol/L, Locsmándi, 2007) ennél kissé magasabbak, azaz semmi afiziológiás tapasztalat nem volt a vizsgált állományban, a csoportok nem tértek el. Mindez arra utal, hogy a két csoport, amennyiben a takarmány azonos fehérjetartalmú volt, abból közel azonos mennyiséget vett fel. Az **összfehérje** koncentráció normál élettani értékek között alakult, a korábban leírt értékek pedig 54-62g/L között, azaz semmi egészségügyi rendellenesség nem volt tapasztalható. Az **albuminra** vonatkozóan az eddigiekben 18,5-20g/L tartományban kaptunk adatokat. Az albumin a vérplazma kolloid onkotikus nyomásáért felel, azaz meghatározó faktor. Semmilyen, élettani szempontból értelmezhető eltérés nem állt fenn ezen szérumfehérje esetében.

A **kreatinin** izomeredetű inaktív bomlástermék. A referencia tartomány alsó határán található adatok tipikusak tömött lúdnál, mely kifejezetten mozgásszegény környezetben éli át a töméses hizlalást. Csoportfüggő eltérés nem volt igazolható.

Lipid metabolitok

A **triglicerid** koncentráció a madarakban a felvett takarmányeredetű lipidek mennyiségétől függ; a csoportok között eltérés igazolható, a nem zöld csoportnál kissé magasabb értékek láthatók. A korábban mért adatainkhoz viszonyítva ez nem kifejezetten magas, hiszen Locsmándi (2007) 6-7 mmol/L értékeket is rögzített napi 6x-i, azaz „intenzívebb” tömés mellett. Az eredmény arra utal, hogy a nem zöld májat produkáló csoport vagy kissé több takarmányt vett fel a vágás előtt vagy az utolsó etetés és a vágás között e csoportban kissé rövidebb idő telt el és ezen állatok még a felszívódási fázisban voltak. A mért adatok semmiképp nem afiziológiások. **Koleszterin:** 6-7 mmol/L értékeket rögzítettünk erősen elzsírosodott, „erőltetetten” és hosszan tömött madarakban. Itt ennél kisebb, de a csoportok között nem eltérő értékek mutatkoznak. A konkrét adatok szerint a májak élettani terhelése nem volt túlzott, hiszen az összkoleszterin szint a zsíretetés extrém mértéke során emelkedik markánsabban. Bár emlőshöz mérten magas, töméses hizlalás alatt normális, nem túlerőltetett technológiára utaló értékeket kaptunk. A **HDL koleszterin** populárisan a „jó koleszterin” nevet hordozza. Optimális, ha az összes koleszterinen belüli aránya 55-65% között mozog. Minél magasabb a HDL koleszterin koncentráció, általában annál markánsabb mértékű a máj és az extrahepatikus szervek sejtmembránjainak koleszterin anyagcseréje. Saját korábbi adataink 6 mmol/L érték felettiek, itt ennél sokkal mérsékeltebb, közel optimális arányt kaptunk, mely szerint a ludak tömés okozta élettani terhelése nem volt kritikus. **Összes bilirubin:** ez volt a vér biokémiai paraméterek között az, ahol a nem zöld májat adó csoport igazoltan magasabb szintet mutatott. A bilirubin a hemoglobin sárga színű bomlásterméke. Fontos azonban megjegyezni, hogy madarakban nem a bilirubin, hanem a biliverdin a végső és domináns hemoglobin bomlástermék és epefesték (ez nem is sárga). Fontos és releváns tény, hogy a biliverdin zöld, oxidációra igen érzékeny, azonban natív formájának abszorpciós maximuma 675 nm (ezt mi fotometriásan nem igazoltuk), oxidált formájáé (bilirubin) pedig 445 nm. A 18-22 napig napi 6x tömött libákban 16-20 mmol/L értékek is előfordultak (Locsmándi, 2007). Ennek megfelelően az eredmény statisztikai eltérést mutat ugyan, de sem extrém magas vérszint, sem élettani szempontból jelentős eltérés nem állt fenn a csoportok között.

Enzimek

Az enzimek közül elsősorban a májműködésre, az esetleges hepatopátiára utalókat határoztuk meg. A **gammaGT** a májsejt ruptúra indikátora, ezen adatállományon azonban a korábbi, Locsmándi (2007) adataival jól egyező aktivitás értékeket kaptunk, utalva a megfelelő májműködésre, minimális sejtkárosodásra. A zöld színhiba nem okozott csoportfüggő eltérést.

A **GPT** (alanin aminoszferáz) jellegzetes máj és izomeredetű enzim, szérumbeli aktivitásemelkedése nem specifikus indikátora a májsérülésnek, izomsérülés is okozhatja azt (Thrall, 2004).

Az **alkalikus foszfatáz** bélhám és oszteoblaszt eredetű izoenzimeit nem külön elemeztük. Mindenesetre normál élettani értékeket kaptunk, függetlenül a máj színhibájától.

Összefoglalva a vérvizsgálati eredményeket, amennyiben azokat a májak zöld és nem zöld csoportjai szerint rendezzük, valós élettani eltérés nem mutatható ki, azaz a máj zöld színhibája és a madarak élettani statusa nem függ össze. A tömési protokoll irodalmi adatokkal összevetve kíméletesnek mondható, az esetlegesen felmerülő réz toxikózist pedig kizártuk.

7. Következtetések

Következtetésképpen megállapítható, hogy az általunk vizsgált libamáj zöldülése nem mikrobiológiai eredetű, a jelenség hátterében, primer tényezőként a hiányos elvértetés állhat. A vérvizsgálattal egy, a technológiáját tekintve kíméletes, májkárosodást nem okozó tömés klinikai kémiai hátterét írtuk le, mely úgy tűnik, nem mutat összefüggést a májak későbbi, tárolás alatti zöldülésével. Mindenképpen fontos eredmény, hogy a réz toxikózist és annak a zöld színhiba kialakulásában betöltött szerepét kizártuk.

Azoknál a májaknál, amelyek szemmel láthatóan véresebbek voltak és a fülledés-vizsgálat is pozitív eredményt adott, a zöldülés is nagyobb valószínűséggel következett be. A műszeres színvizsgálat eredményei alapján megfigyelhető volt, hogy a zöld elszíneződést mutató májakon mért L^* , a^* és b^* -értékek közül elsősorban az a^* -érték vizsgálati időpontról-időpontra fokozatosan csökkent. Eredményeink alapján a probléma kiküszöbölésére megoldás lehet egy aerob technológiával történő termékcsomagolás (pl. védőgáz), illetve a vértetés tökéletesítése, amennyiben az üzemi technológiába beilleszthető.

Vizsgálataink és eredményeink összessége továbbá arra enged következtetni, hogy a frissen bontott libamájat a zöldes, fagyasztva tárolt májtól - műszeres színintenzitás vizsgálattal - nagy biztonsággal el lehet különíteni, amely módszer akár a minőségellenőrzésbe is beilleszthető. További vizsgálataink során az eljárást kívánjuk finomítani, feltételezésünk szerint akár a tárolási időre is lehetne következtetni a műszeres színintenzitás mérésével. Az azonosított színanyag, valamint annak meglepően nagy oxidációra való érzékenysége, illetve a kialakulás okainak pontos feltárása igen biztató eredmények. Mindezek ismeretében a további munkánk arra irányul, hogy üzemi körülmények között hogyan fokozható a kivéztetés mértéke, hogyan csökkenthető vagy küszöbölhető ki a fülledés, illetve védőgáz csomagolással, oxigén jelenlétében meggátolható-e a zöld szín tárolás alatti kialakulása. Több külföldi szerző is megemlíti, hogy a szállítási idő (Fernandez és mtsai. 2011) és a kábítás módja is befolyásoló hatással van a kivéztetettségre (Fernandez és mtsai., 2003), illetve a máj színére (Fernandez, 2010). Uijttenboogaart (1999) szerint az elektromos kábítással a brojler csirkék mája szignifikánsan világosabb, zöldebb és sárgább, mint a gázzal kábított állatoké, ezért jövőbeni tanulmányaink során ezekre a tényezőkre is ki szeretnénk térni.

8. Köszönetnyilvánítás

A kutatás a GOP-1.1.1-09/1-2010-0199 és a TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0019 számú projektek finanszírozásával valósult meg. A libamájakat az INTEGRÁL Baromfifeldolgozó Zrt. bocsátotta rendelkezésünkre. Külön köszönjük Dobosné Németh Ottilia üzemigazgató, Vajda Tamás termelési főmérnök, valamint Rekedtné Fekete Evelin és Németh Nikolett önzetlen szakmai segítségét.

9. Felhasznált irodalom

Áprily, Sz. (2009): A májtermelő képességet és a májminőséget befolyásoló egyes tényezők vizsgálata lúdfajban, Doktori (PhD) értekezés. Kaposvár. 1-149.

Barnes E.M., Shrimpton D.H. (1957): Causes of greening of uneviscerated poultry carcasses during storage. J. Appl. Bacteriol. 20: 273-285.

Berczeli, A. (2006): Útmutató a baromfi és nyúlfélék vágásának és darabolásának jó higiéniai gyakorlathoz, Budapest

Birkás, E. (2003): Magyarország piacvezető-pozíciója megőrzésének lehetőségei és feltételei a világ libamáj piacán. Doktori (PhD) értekezés

Bogenfürst, F. (1999) Kacsák. Házikacsák, pészmarécék, mulardkacsák, díszrécék. Gazda Kiadó. Budapest. p. 186-187. ISBN 963 7445 19 6

Bogenfürst, F. (2000): Lúdtenyésztés In Állattenyésztés 2. Baromfi, haszongalamb. 2. kiadás. Mezőgazda Kiadó. p. 225-280. ISBN 963 9358 54 1

Buckland, R., Guy, G. (2002): Goose Production, Fao Animal Production and Health Paper – 154, ISBN 92-5-104862-2.<http://amalthia.kevio.gr/wp-content/uploads/2012/02/Goose-Production.pdf> (2012.11.12.)

CIFOG (2008): Rapport économique. Marché du foie gra: Dynamisme de la production et de la consommation de foie gras! Paris, Assemblée Générale du 27 juin 2008, 65.

Commission Internationale de l'Éclairage (1924): *Principales décisions* (6e Session, 1924), CIE Sixième Session, Genève, Juillet, 1924. Recueil des Travaux et Compte Rendu de Séances, Cambridge, the Univ. Press, 1926, 67-69.

Fernandez, X., Bouillier-Oudot, M., Molette, C., Bernadet, D., Manse, H. (2011): Duration of transport and holding in lairage at constant porprandial delay to slaughter – Effects on fatty liver and breast-muscle quality in mule ducks. Poultry Science. 90(10): 2360-2369.

Fernandez, X., Lahirigoyen, E., Bouillier-Oudot, M., Vitezoa, Z., Auvergne, A. (2010): The effect of stunning methods on product qualities in force-fed ducks and geese. 2. Fatty liver quality. Animal. 4(1): 139-146.

- Fernandez, X., Leprettre, S., Dubois, J.-P., Auvergne, A., Babile, R.(2003): The influence of current parameters during the water-bath stunning of overfed geese (*Anser anser*) on blood loss on fatty liver and meat down grading. *Animal Res.* 52: 383-397.
- Flexman, A.M., Del Vicario, G., Schwarz, S.K. (1972): "Dark green blood in the operating theatre". *Lancet* 369: 9577.
- Gill C.O. (1982): Microbial interactions in meats, In Brown MH, *Meat Microbiology*, London, Applied Science. 225-264
- Guy G. (2000): Physiological terms of quality liver production. *Proc. 3rd International Poultry Breeding Symp. Kaposvár*, 51-67.
- Horváthné, A., K., Magyar, K., Baráné, H. O., Bontovics, P., Sebik, A. (2002): Hízott libamáj állományának vizsgálata érzékszervi és műszeres módszerrel az osztályozás hatékonyságának javítása céljából; XIV. Élelmiszertudományi Konferencia, Budapest, 2002. május 16.
- Jankóné, Dr. F. J. (2006): Élelmiszeripari technológiák.
http://users.atw.hu/food2/Eltech_alap/elemit.pdf (2012.11.11.)
- Kaplan, L.A., Pesce, A.J., Kazmierczak, S.C. (2003): *Clinical chemistry. Theory, Analysis, Correlation.* MOSBY, St. Louis, Missouri, USA
- Kemmerer, A.R., Fraps, G.S. (1943): Note on a Green Pigment in the Fat of a Chicken. *Poultry Science* 22: 189-
- Kijowski, J., Mikołajczak, A., Kwitowski, L., Nencki, J., Sliga, M. (2005): Traditional rearing and slaughter of christmas turkeys in England. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 14(55): 75-78.
- Kozák J. (2011): A hízott liba- és kacsamáj termelése, valamint piaci kihívásai. *Gazdálkodás*, (55) 309–316.
- Locsmándi, L. (2007): A libamáj komplex vizsgálata, Doktori (PhD) értekezés.
- Locsmándi, L., Kövér, G., Bázár, Gy., Szabó, A., Romvári, R., (2006): Development of a model using Near-Infrared Reflectance spectroscopy for the determination of the chemical composition of fatty goose liver. *Acta Alimentaria.* 35 (4): 455–463.
- Lemberg, R., Legge J.W. (1949): *Hematin compounds and bile pigments.* Interscience Publishers Inc., New York, USA.

Magyar Élelmiszerköny (Codex Alimentarius Hungaricus); 2. kötet; 2-13. irányelv; Húskészítmények; 2004. évi módosított kiadás; 16-17. o.

Mourot, J., Guy, G., Lagarrigue, S., Peiniau, P., Hermier, D. (2000): Role of hepatic lipogenesis in the susceptibility to fatty liver in the goose (*Anser anser*). Comp. Biochem. Physiol. B. 126. (1): 81-87. pp.

Nagy, Z. (2006): Baromfivágás gépei. Békéscsaba: BRKK, 2006. 47. p

Nicol, D.J., Shaw, M.K., Ledward, D.A. (1970): Hydrogen sulfide production by bacteria and sulfmyoglobin formation in prepacked chilled beef. Appl. Microbiol. 19(6): 937-939.

Pennington, M.E., Sherwood, C.M (1922): The greening of poultry. Poultry Science.1: 114-124.

Rao AU, Carta LK, Lesuisse E, Hamza I. (2005): Lack of heme synthesis in a free-living eukaryote. PNAS 102(12):4270-4275.

Rodriguez-Amaya, D.B. (2001): A guide to carotenoid analysis in foods. ILSI PRESS International Life Sciences Institute, One Thomas Circle, N.W., Washington, D. C. USA.

Salichon, M. R., Guy, G., Rousselot-Pailley, D., Blum, J. C. (1994): Composition des trois types de foie gras oie, canard mulard et canard de Barbarie; Annales de Zootechnie. 35: 169-175.

Shahzad MN, Javed MT, Shabir S, Irfan M, Hussain R (2012). Effects of feeding urea and copper sulphate in different combinations on live body weight, carcass weight, percent weight to body weight of different organs and histopathological tissue changes in broilers. Exp. Toxicol. Pathol. 64(3):141-147.

Százados, I. (1995): Az emlős vágóállatok húsvizsgálata. Mezőgazda Kiadó, Budapest. p. 122-124.

Thrall, M. A. (2004): Veterinary Haematology and Clinical Chemistry. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, USA.

Trampel, D.W., Sell, J.L., Ahn, D.U., Sebranek, J.G. (2005): Preharvest Feed Withdrawal Affects Liver Lipid and Liver Color in Broiler Chickens. Poultry Science. 84:137–142.

Turcsán, J. (2005): Minősegbiztosítás a hízott libamáj előállításában, különös tekintettel az élelmiszeripari feldolgozás folyamatára, Doktori (PhD) értekezés. NyME, MÉK, Élelmiszertudományi Intézet.

Uijttenboogaart, T. (1999): Effects of gas and electrical stunning methods on meat quality. Simpósio Internacionais sobre Tecnologia de Processamento e Qualidade da Carne de Aves 13 e 14 de abril de 1999 - Concórdia, SC

Völkel, S., Berenbrink, M. (2000): Sulphaemoglobin formation in fish: a comparison between the haemoglobin of the sulphide-sensitive rainbow trout (*Oncorhynchus Mykiss*) and of the sulphide-tolerant common carp (*Cyprinus Carpio*). J. Exp. Biol. 203(6):1047-1058.

Zijlstra, W.G., Buursma, A., Meeuwssen-van der Roest, W.P. (1991): Absorptionspectra of human fetal and adultoxyhemoglobin, de-oxyhemoglobin, carboxyhemoglobin, and methemoglobin. Clin. Chem. 37(9):1633-1638.

<http://www.easyrgb.com/index.php?X=CALC>

http://en.wikipedia.org/wiki/Color_difference

<http://www.sapdesignguild.org>

IBM SPSS 20. for Windows (2012): SPSS Inc. Chicago, IL. USA.